



## **FACULTE DE LA NATURE ET DE LA VIE.**

Mémoire de projet de fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme de Master.

**Domaine :** Sciences de la Nature et de la Vie

**Spécialité :** Biosignalisation Moléculaire et Cellulaire « Immunologie »

### **THEME**

**Profil en auto-anticorps d'isotype IgG/IgM  
dans le syndrome des antiphospholipides.**

Présenté par

**Mlle Mokhbat Rimel Nihad**

*Soutenu le 20.09.2015 devant le jury composé de :*

|              |                   |                          |      |
|--------------|-------------------|--------------------------|------|
| Président    | : Mme Eddaikra. A | Maitre assistante A.     | FSNV |
| Promoteur    | : MR Salah. S.S   | Maitre de conférences A. | IPA  |
| Co-Promoteur | : Mme Mataoui. H  | Maitre assistante A.     | FSNV |
| Examinatrice | : Mme Aissani.R   | Maitre assistante A.     | FSNV |

Promotion 2014-2015.

## **REMERCIEMENTS**

Avant toute lecture et perception de ce travail de recherche que j'ai eu le plaisir de réaliser, il me semble opportun d'être reconnaissante au bon dieu le tout puissant, envers les personnes qui ont contribués a son bon accomplissement.

Ainsi je souhaite tous d'abord exprimer mes sincères remerciements envers mon promoteur le PR Salah S.S, de m'avoir accepté au de sein son laboratoire, d'avoir accepté de m'encadrer et surtout pour sa patience, ses disponibilités et ses judicieux conseils qui m'ont toujours montré que le parcours de la recherche pouvait être un vaste univers passionnant.

Je voudrais remercier tout particulièrement, DR Benidir, M. qui m'a dirigé tout au long de mon stage elle a toujours été disponible pour moi, à l'écoute de mes nombreuses questions, et s'est toujours intéressée à l'avancée de ce travail. Ses conseils, Sa capacité d'analyse et son enthousiasme m'ont beaucoup aidé.

Je tiens aussi à remercier le chef de département d'Immunologie, de l'Institut Pasteur d'Algérie, le PR Attal .N qui a accepté de m'accueillir en stage.

Je voudrais remercier, tout le personnel de l'Institut Pasteur d'Algérie, en particuliers le celui du Laboratoire d'Auto-Immunité, au sein duquel j'ai effectué ce mémoire.

Je souhaite remercier, ma Co-promotrice, Mme Mataoui. H, pour son aide, sa méthodologie ses conseils de rédaction qui m'ont toujours servie durant la réalisation de ce travail.

Je tiens également à remercier les membres de jury pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant de siéger à ma soutenance : Mme Eddaikra. A, pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire, et Mme Aissani. R pour avoir consacré du temps à la lecture de ce mémoire en tant qu'examinatrice.

*A ma chère maman ;*

*A toute personne qui souhaite et qui espère voir mon succès et ma réussite ...*

## Résumé.

Le syndrome des anti-phospholipides (SAPL), est une entité caractérisé par une triade associant des thromboses veineuses et/ou artérielles, des complications obstétricales et la présence d'anticorps de type (aPL). L'actualisation des critères diagnostiques du SAPL datant de 2006, a permis d'introduire les antiB2glyI comme un critère biologique à part entière, et a insisté sur l'importance de la persistance des aPL au moins 12 semaines pour confirmer le diagnostic. Pourtant, La mises-en Évidence d'un SAPL, s'avère souvent délicate, c'est pourquoi, notre étude vise a montré l'intérêt de rechercher d'autres anticorps non conventionnels d'isotypes IgG/IgM, devant une population évocatrice des signes cliniques du SAPL, ayant déjà une séronégativité en anticorps conventionnels, mais aussi établir une corrélation entre le profil clinique et le profil biologique, Et ce dans un cadre d'une étude transversale de (170patients). On note au vu des résultats, que la prévalence des anticorps aPT positif était nettement plus corrélée aux troubles neurologiques (AVC), par rapport aux thromboses. En revanche le complexe aPS/PT a montré une forte corrélation aux thromboses, par rapport à d'autres manifestations, le complexe s'est montré également comme un grand facteur de risque lié aux thromboses en le comparant avec les aPT. Que son association, avec les anticorps conventionnels, a montré une corrélation statiquement significative avec les anticorps aCL d'isotype IgG, de plus sa prévalence dans un profil de triple positivité, était la plus fréquente. La recherche du complexe aPS/PT et d'autres aPL non conventionnels chez une population séronégative en anticorps conventionnels, a montré clairement que les aPS/PT étaient associés aux thromboses. En conclusion, notre travail, a montré clairement l'existence d'une corrélation entre les manifestations cliniques et les anticorps non conventionnels. Il serait intéressant de bien étudier les cibles antigéniques des antiphospholipides, Afin d'améliorer la stratégie de détection de ces anticorps et de développer de nouvelles approches pour mieux diagnostiquer la maladie et revisité les critères de classification du SAPL.

**Mots clés :** Syndrome des antiphospholipides, anticorps non conventionnels, manifestation cliniques, technique immunologique ELISA.

## Abstract.

The antiphospholipid syndrome is an entity characterized by a triad of venous thrombosis and / or arterial, and pregnancy morbidity in association with the persistent Presence of autoantibodies called antiphospholipid antibodies (APAs). The updating, of the diagnostic criteria for APL, since 2006, has introduced the antiB2glyI, as a new biological criterion, and highlight, the necessity to increase the interval between two positive APA tests, from six to 12 weeks, to confirm the diagnosis. However, the diagnosis of APS remains challenging and often proves difficult, therefore, our study aimed to show, interest to research for other antibody isotypes, unconventional IgG / IgM, front an evocative population of Clinical signs of APS, who already are seronegative for conventional antibodies, but also, put a correlation between the clinical profile and biological profile in our population. This is in a context of a cross-sectional study (170patients). it is noted from our results, That prevalence of positive antibody aPT was significantly correlated with neurological disorders (stroke), than thrombosis, however the complex aPS / PT showed a strong correlation to thrombosis compared to other event, it's also represent as a risk factor associated with thrombosis comparing it with aPT. its association with the conventional antibodies, showed a statistically significant correlation, with the IgG isotype antibody aCL. In addition, their prevalence, in a triple positivity profile was more frequent. Research of aPS / PT and other unconventional antibody in negative population for conventional antibodies, showed a high association of complex aPS/PT to thrombosis.

In conclusion, our study has clearly shown the existence of a correlation between clinical and non- conventional antibodies, so it would be interesting to study the heterogeneity of antigenic targets in antiphospholipid antibody, To improve the detection of these antibodies and develop, new technical approaches strategy. To better diagnose the disease and finely revisited the classification criteria of APS.

**Key Word:** antiphospholipid syndrome, unconventional antibody, clinical events, ELISA immunological technique.

## الملخص.

متلازمة دمها أو متلازمة الأجسام المضادة، عبارة اضطراب تخثر وريدي و / أو الشرايين، وأمراض الحمل مع استمرار وجود الأجسام المضادة للفسفوليبيد. الأجسام المضادة للفسفوليبيد هي مجموعة غير متجانسة من المضادات المتداولة، والتي يمكن الكشف عنها بواسطة فحوصات تجلط الدم، (LA) أو من خلال اختبارات مناعية من نوع ELISA للكشف عن الأجسام المضادة الكاردوليبيين (aCL) والأجسام مضادة B2GPI. التحديث من المعايير التشخيصية للأجسام المضادة للفسفوليبيد، منذ عام 2006، أدخلت مضادات B2gIyI، كمعيار البيولوجي جديد وشددت على أهمية استمرارية الأجسام المضادة للفسفوليبيد لمدة لا تقل عن 12 اسبوعا للتأكد من تشخيص المرض. ومع ذلك، فإن تشخيص متلازمة الأجسام المضادة يبقى تحديا وغالبا ما يثبت صعوبة، لذلك، تهدف دراستنا، الى البحث عن الأجسام المضادة الأخرى غير التقليدية، عند المرضى المتميزين بالعوارض السريرية وسلبية الأجسام المضادة التقليدية، ومن جهة أخرى وضع علاقة بين العوارض السريرية والعوارض البيولوجية. وهذا في إطار دراسة مستعرضة (مرضى 170). لوحظ من خلال نتائجنا، أن انتشار إيجابية الأجسام المضادة (aPT)، ارتبط بشكل كبير مع الاضطرابات العصبية (السكتة الدماغية)، مقارنة مع تخثر الدم، إلا أن معقد aPS/PT / أظهر ارتباط قوي لتجلط الدم بالمقارنة لعوارض أخرى، زيادة إلى انه يمثل أيضا عامل خطر بالنسبة الى تجلط الدم مقارنة مع aPT. ومن المهم أن الاشارة إلى ارتباط معقد aPS/PT مع الأجسام المضادة التقليدية أظهر علاقة ذات دلالة إحصائية، مع الأجسام المضادة الكاردوليبيين نمط IgG بالإضافة إلى ذلك كان انتشاره غالبا في مظهر ثلاثي الايجابية، من الضعف أو أحادية الإيجابية لأجسام المضادة التقليدية. أما بالنسبة، إلى البحث عن الأجسام المضادة الأخرى غير التقليدية والمعقد aPS/PT عند المرضى المتميزين بالعوارض السريرية وسلبية الأجسام المضادة التقليدية. أظهرت وجود ارتباط معقد PT / aPS مع تخثر الدم، حتى أقل مع أمراض الحمل. ويبدو أيضا أن الأجسام مضادة الفسفاتيديليسرين تترافق في انتشار منخفض مع حدث الولادة وأمراض الحمل. في الختام، وقد أظهرت دراستنا بشكل واضح وجود علاقة بين الأجسام المضادة الغير تقليدية السريرية والعوارض السريرية، لذلك سيكون من المثير للاهتمام الى دراسة تباين أهداف المستضدات في متلازمة الأجسام المضادة، بطريقة أو بأخرى زيادة دراسة فعالة. لتحسين الكشف عن هذه الأجسام المضادة وتطوير استراتيجية جديدة المناهج. لتشخيص أفضل للمرض والنظر بدقة الى معايير التشخيصية للأجسام المضادة للفسفوليبيد.

**الكلمات المفتاحية:** متلازمة الأجسام المضادة، الأجسام المضادة غير تقليدية، العوارض السريرية، إختبارات مناعية  
ELISA

## Liste des figures

|  |    |
|--|----|
| Figure 1 : Chronologie sur l'historique du SAPL.....   | 1  |
| Figure 2 : Prévalence et distribution des aPL chez la population lupique.....  | 2  |
| Figure 3 : Physiopathologie du SAPL.....   | 5  |
| Figure 4 : Modèle d'inactivation du système protéine C/protéine S par les anti-B2 glyI.....  | 7  |
| Figure 5 : Rôle de l'activation du complément dans les pertes fœtales induites par les aPL.....  | 9  |
| Figure 6 : Diversité des cibles antigéniques des aPL.....  | 10 |
| Figure 7 : Modèle général d'activation cellulaire par les anti-β2-glyI.....  | 11 |
| Figure 8 : mécanisme d'interaction des aPS/PT prothrombine, phosphatidylsérine et activation<br>.....  | 12 |
| Figure 9 : Répartition des patients selon l'âge.....   | 15 |
| Figure 10 : Répartition des patients selon le sexe.....  | 15 |
| Figure 11 : Profil sérologique des patients étudiés.....   | 16 |
| Figure 12 : Principe de l'immunofluorométrie en Flux (Technologie Multiplex).....  | 17 |
| Figure 13 : Disposition des antigènes (SP, PS, PI, PE, PC, CL, B2GPI+Clet B2GPI) dans une<br>microplaque ELISA.....                              | 21 |
| Figure 14 : Répartition des patients selon les manifestations.....   | 23 |
| Figure 15 : Profil des aPL chez les patients.....  | 25 |
| Figure 16 : Corrélation entre manifestations cliniques et production des anticorps<br>conventionnels (Groupe I).....                             | 26 |
| Figure 17 : Corrélation entre manifestations cliniques et la production des aPS/PT.....  | 29 |
| Figure 18 : comparaison des aPS/PT et aPT et leur association avec le risque de thromboses<br>.....  | 30 |
| Figure 19 : Corrélation entre production des aPS/PT et aPL conventionnels.....   | 31 |
| Figure 20 : Association entre IgG aPS/PT et les anticorps conventionnels.....  | 32 |
| Figure 21 : Association entre IgM aPS/PT et les anticorps conventionnels.....  | 32 |
| Figure 22 : Corrélation entre manifestations cliniques et les autres spécificités aPL : aPE, aPC,<br>aPS, aPI et aSP.....                        | 33 |
| Figure 23 : Corrélation entre manifestations cliniques et les aPS/PT et anti-Annexine 5 en cas<br>de séro-négativité des aPL conventionnels..... | 34 |

## Liste des tableaux

|  |    |
|--|----|
| Tableau 1 : Manifestations cliniques du SAPL.....  | 4  |
| Tableau 2 : Critères révisés de Sydney 2006.....   | 9  |
| Tableau 3 : corrélation entre manifestations cliniques et isotypes IgG/IgM des aPL conventionnels..... | 27 |
| Tableau 4 : Corrélation entre manifestations cliniques et la production des aPT.....                   | 28 |

## Liste d'abréviations

- Anti-B2glyI: anti-B2glycoprotéine I
- aCL: anticardiolipine
- aPL: antiphospholipides
- aPT: antiprothrombine
- aPE : antiphosphatidyléthanolamine
- aPI: antiphosphatidylinositol
- aPC:antiphosphatidyl cholin
- aPS: antiphosphatidylsérine
- aSPH: antisphingomyéline
- APS: anti protéine S
- APC : protéine C activée
- ApoER2' : Récepteur 2' de l'apolipoprotéine E
- AVC : accident vasculaire cérébrale
- EPCR : endothelial protein C receptor
- FT: facteur tissulaire
- HELLP: hémolysis elevated liver enzymes low platelet count.
- ICAM-1 : inter-cellular adhesion molecule-1.
- LES : lupus érythémateux systémique.
- LA : lupus anticoagulant.
- MyD88 : myeloid differentiation factor 88.
- PAI : plasminogen activator-inhibitor t.
- PC : protéine C.
- PE : phosphatidyléthanolamine.
- PF4 : Facteur plaquettaire 4.
- PI : phosphatidylinositol.
- PL: phospholipids.
- PLA2: phospholipase A2.
- PT: prothrombine.
- PS/PT: phosphatidylsérine-prothrombine.
- P38MAPK: P38 mitogen-activated protein kinases.
- SAPL: syndrome des antiphospholipides.
- SFlt-1: Soluble fms-like tyrosine kinase-1.
- Tm: thrombomoduline
- TNF $\alpha$ : tumor necrosis factor  $\alpha$
- TLR: toll-like récepteur
- TXA2: thromboxane A2
- VCAM-1 : vascular-cell adhesion molecule-1
- V : proaccélérine.
- VIII : facteur anti hémophilique A.
- VDRL : venereal disease research laboratory
- VEGF : Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire.

# Sommaire

|  |          |
|--|----------|
| Introduction.....  | 1        |
| <b>Chapitre I : rappels bibliographiques.....</b>                                | <b>2</b> |
| I-1-Historique.....  | 2        |
| I-2.Le syndrome des anti-phospholipides SAPL.....                                | 2        |
| I-2-1.Définition.....  | 2        |
| I-2-2.Epidémiologie.....   | 3        |
| I-2-3.Manifestations clinico-biologiques.....                                    | 4        |
| I-2-4.Physiopathogénie du syndrome des anti-phospholipides.....                  | 5        |
| I-2-4-1.A l'échelon moléculaire.....   | 5        |
| I-2-4-1-1.Activation des plaquettes sanguines.....                               | 6        |
| I-2-4-1-2. Activation des Cellules Endothéliale.....                             | 6        |
| I-2-4-1-3. Activation des Monocytes Sanguins.....                                | 6        |
| I-2-4-2.A l'échelon moléculaire.....   | 7        |
| I-2-4-2-1. Inhibition du Système "Protéine C–Protéine S".....                    | 7        |
| I-2-4-2-2. Inhibition de l'effet anticoagulant de l'Annexine A5.....             | 8        |
| I-2-4-2-3. Rôle du complément.....   | 8        |
| I-2-5.Critères de classification et de diagnostic.....                           | 9        |
| I-3.Les anticorps anti phospholipides et diversité antigéniques.....             | 10       |
| I-3-1-.Les anti phospholipides conventionnels.....                               | 10       |
| I-3-1-1.Anticorps anticardioline.....  | 10       |
| I-3-1-2.Anticorps anti $\beta$ 2 glycoprotéine I.....                            | 11       |
| I-3-1-3..Lupus anticoagulant.....  | 12       |
| I-3-2.Les anticorps non conventionnels.....                                      | 12       |
| I-3-2-1.Anticorps anti-prothrombine et antiphosphatidyl serine/Prothrombine..... | 12       |
| I-3-2-2. Anticorps anti-annexine A5.....   | 13       |
| I-3-2-3Anticorps antiphosphatidyléthanolamine ET antiphosphatidylserine.....     | 13       |
| I-3-2-3-1.les anticorps anti-phosphatidyl Ethanolamine.....                      | 13       |
| I-3-2-3-2.Les anticorps antiphosphatidylsérine.....                              | 13       |
| I-3-2-4.Anticorps antiphosphatidylcholine.....                                   | 13       |

|  |    |
|--|----|
| I-3-2-5. Anticorps anti-phosphatidyl inositol et les anticorps anti-sphingomyélines...   | 13 |
| <b>Chapitre II : Matériels et méthodes</b> .....   | 14 |
| II-1. Matériels.....   | 14 |
| II-1-1. Population Etudiée et Matériel Biologique.....   | 14 |
| II-1-2. Matériel non Biologique.....   | 16 |
| II-2. Methodes.....  | 16 |
| II-2-1. Recherche des aPL "aCL + anti- $\beta$ 2GPI + aPT" par Immunofluorimétrie en Flux (Technologie Multiplex).....                           | 16 |
| II-2-1-1. Principe.....  | 16 |
| II-2-1-2. Protocole.....   | 17 |
| II-2-1-2-1. Préparation des Réactifs.....  | 18 |
| II-2-1-2-2. Mode Opérateur.....  | 18 |
| II-2-1-3. Interprétation des Résultats.....  | 18 |
| II-2-2. Recherche des aPL par technique Immuno-enzymatique type ELISA.....   | 19 |
| II-2-2-1. Principe.....  | 19 |
| II-2-2-2. Protocole.....   | 19 |
| II-2-2-2-1. Préparation des Réactifs.....  | 19 |
| II-2-2-2-2. Mode Opérateur.....  | 20 |
| II-2-2-3. Interprétation des Résultats.....  | 21 |
| II-3. Analyse statistique.....   | 22 |
| <b>Chapitre III : Résultats</b> .....  | 23 |
| III-1. Répartition des patients selon les manifestations cliniques.....  | 23 |
| III-2. Profil des aPL chez les patients étudiés.....   | 24 |
| III-3. Corrélation clinico-biologique.....   | 25 |
| III-3-1. Association entre manifestations cliniques et production des anticorps conventionnels.....  | 25 |
| III-3-1-1. Association suivant l'isotype (IgG/IgM) entre manifestations cliniques et production des anticorps conventionnels (Groupe I).....     | 27 |
| III-3-2. Association entre manifestations cliniques et production simultanée des anticorps conventionnels et non conventionnels (Groupe II)..... | 28 |
| III-3-2-1. Production des aPT.....   | 28 |

|   |    |
|---|----|
| III-3-2-2. Production des anticorps anti-complexe "PS/PT" .....   | 29 |
| III-3-2-3 Comparaison entre association des aPT, de complexe aPS/PT avec le risque de thromboses.....   | 29 |
| III-3-2-4. Corrélation entre production des aPS/PT et aPL conventionnels.....   | 30 |
| III-3-2-5. Profil de production des aPS/PT et aPL conventionnels.....   | 31 |
| III-3-3. Association entre manifestations cliniques et la non production d'aPL conventionnels (patients séronégatifs) (Groupe III).....       | 33 |
| III-3-3-1. Association entre manifestations cliniques et les autres spécificités aPL : aPE, aPC, aPS, aPI et aSP.....                         | 33 |
| III-3-3-1. Association entre manifestations cliniques et aPS/PT et anti-Annexine 5.....   | 34 |
| <b>Chapitre IV : Discussion</b> .....   | 35 |
| IV-1. Répartition des patients selon les manifestations cliniques.....  | 35 |
| IV-2. Association entre manifestations cliniques et production des anticorps conventionnels (Groupe I).....                                   | 35 |
| IV-3. Association entre manifestations cliniques et production simultanée des anticorps conventionnels et non conventionnels (Groupe II)..... | 36 |
| IV-3-1. Production des aPT.....   | 36 |
| IV-3-2. Production des anticorps anti-complexe "PS/PT" .....  | 36 |
| IV-3-3. Comparaison du risque thrombogène associé aux aPT vs. aPS/PT.....   | 36 |
| IV-3-4. Association entre production des aPS/PT et aPL conventionnels.....  | 36 |
| IV-3-5. Profil de production des aPS/PT et aPL conventionnels.....  | 37 |
| IV-4. Association entre manifestations cliniques et la non production d'aPL conventionnels (patients séronégatifs) (Groupe III).....          | 37 |
| IV-4-1. Association entre manifestations cliniques et les autres spécificités aPL : aPE, aPC, aPS, aPI et aSP.....                            | 37 |
| IV-4-2. Association entre manifestations cliniques et les aPS/PT et anti-Annexine 5 en cas de séronégativité des aPL conventionnels.....      | 37 |
| <b>Conclusion</b> .....   | 38 |

Annexe

Références bibliographiques

Le syndrome des antiphospholipides (SAPL) souvent appelé Hughes syndrome, est une affection auto-immune, définie par des événements thrombotiques et/ou obstétricaux et par la présence d'au moins un type d'anticorps anti phospholipides (aPL). (Visseaux *et al.*, 2011).

Le terme aPL, regroupe une hétérogénéité d'anticorps, mais qui est faussement nommés puisque ils reconnaissent des phospholipides anioniques ou neutres, (soit le phospholipide lui-même, soit l'association de ce phospholipide avec des protéines plasmatiques, soit la protéine plasmatique seule), qui sont pour la plupart des constituants des membranes cellulaires. (Sanmarco, 2011)

Les mécanismes pathogènes des antiphospholipides en faveur des manifestations cliniques sont variés. Ces autoanticorps interfèrent avec les voies physiologiques de la coagulation par leur réactivité avec la bêta2- glycoprotéine 1, la prothrombine, la protéine C, la protéine S. généralement il est admis que ces autoanticorps dérèglent la balance de l'hémostase dans le sens pro-thrombotique. Il est probable que d'autres mécanismes d'action soient en jeu comme l'activation des cellules endothéliales et des monocytes, Ou encore une forte production de cytokines pro-inflammatoires après activation de la voie NF kappa B par les anti-bêta2GP1. (Masliah *et al.*, 2012).

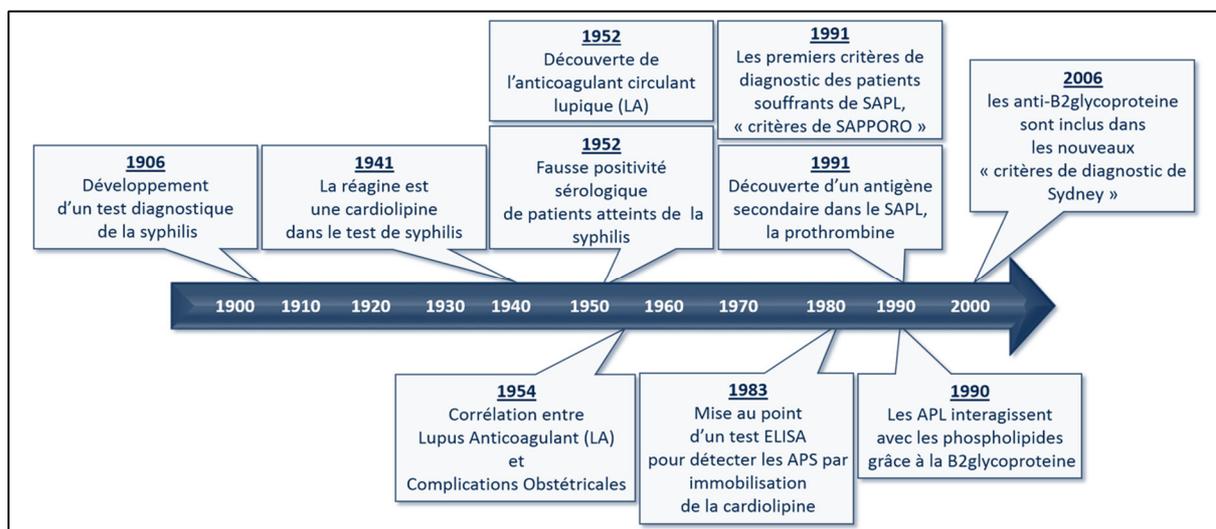
Le diagnostic du SAPL repose actuellement sur des critères de classification de Sydney 2006 qui sont subdivisés en critères cliniques citant la présence d'au moins une manifestation thrombotique (veineuse ou artérielle) ou complication obstétricale, mais aussi ,les critères biologiques dont la recherche de lupus anticoagulants, d'anticorps anticardioline et d'anticorps anti- $\beta$ 2-glycoprotéine I d'isotypes IgG ou IgM. (Miyakis *et al.*, 2006)

Notre objectif est d'étudier l'existence d'une corrélation entre le profil clinique (symptôme) et le profil biologique (anticorps aPL) de la maladie et de montrer l'intérêt de rechercher d'autres aPL, non conventionnels (les anti-prothrombine, le complexe antiphosphatidyl sérine/prothrombine, les anti-phosphatidylethanolamine, anti-phosphatidylsérine, anti-phosphatidylinositol,, anti-annexine V) dirigés contre d'autres sites antigéniques non pris en compte dans les tests de routine pour le diagnostic, chez les deux populations séropositives et séronégatives.

# Chapitre I : Rappels bibliographiques

### I-1. Historique :

Pendant longtemps on connaît les aPL, comme étant des marqueurs d'une maladie infectieuse "la syphilis". Cependant, au fil des années et des découvertes scientifiques, on note une diversification des caractéristiques de ces anticorps et leurs associations cliniques (Figure 1). (de Laat *et al.*, 2008).



**Figure 1 : Chronologie sur l'histoire du SAPL.**

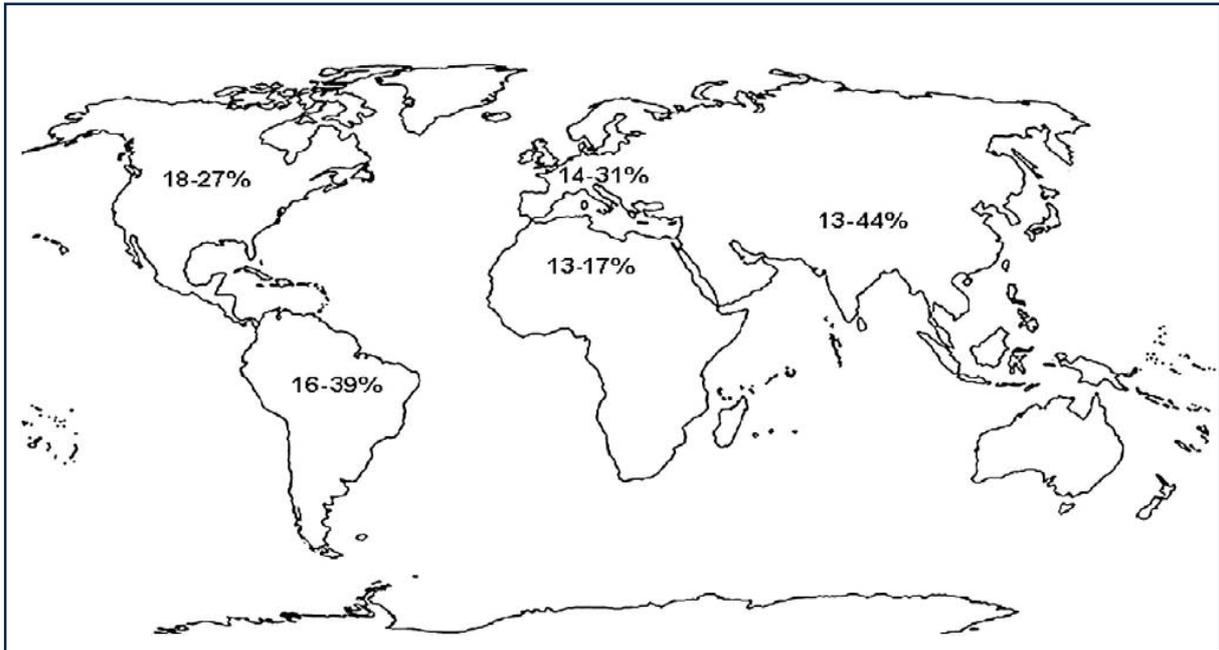
(de Laat *et al.*, 2008)

### I-2. Le syndrome des anticorps anti-phospholipides (SAPL)

#### I-2-1. Définition

Entité clinico-biologique associant des manifestations cliniques dominées par la survenue d'événements thrombotiques (veineux et/ou artériels) et de complications obstétricales à la production persistante d'autoanticorps de type anti-phospholipide aPL (Visseaux *et al.*, 2011). Le SAPL est considéré comme :

- **Primaire** : s'il n'est associé à aucune pathologie, en particulier auto-immune.
- **Secondaire** : s'il survient chez des patients atteints d'un Lupus Erythémateux Systémique (LES) ou une autre maladie de système. (Manon *et al.*, 2014)
- **Catastrophique** : caractérisé par l'apparition rapide de thromboses multiples, secondaire à une atteinte thrombotique diffuse de la microcirculation. en présence d'aPL pouvant aboutir à une défaillance multiviscérale mettant en jeu le pronostic vital. (Chalumeau *et al.*, 2012).

**I-2-2. Epidémiologie**

**Figure 2** : Prévalence et distribution des APL chez la population lupique  
(Biggioggero *et al.*, 2010)

D'un point de vue épidémiologique la prévalence du SAPL est mal connue, les anticorps antiphospholipides sont retrouvés de 1 à 5% chez une population générale et de 20 à 30% chez une population lupique (Hachuella *et al.*, 2007). (Figure 2).

En Algérie la prévalence des aPL dans une population est mal connue, en raison de faibles études menées sur le syndrome des antiphospholipides.

**I-2-3. Manifestation cliniques**

Au cours du SAPL, de nombreuses manifestations cliniques sont observées (résumées dans le tableau 1)

**Tableau 1 : Manifestations cliniques du SAPL.**

(Hachuella *et al.*, 2007)

| Atteintes Viscérales    | Atteintes thromboemboliques des gros vaisseaux                      | Microangiopathie Thrombotique     |                             |              |
|-------------------------|---|-----------------------------------|-----------------------------|--------------|
| <b>Artérielle</b>       | Thrombose de :  | Aorte                             | -                           |              |
|                         |   | Artères Axillaires                |                             |              |
|                         |   | Carotides                         |                             |              |
|                         |   | Artères Hépatiques                |                             |              |
|                         |   | Artères Pancréatiques             |                             |              |
|                         |   | Artères poplitées                 |                             |              |
|                         |   | Artères spléniques                |                             |              |
| <b>Obstétricale</b>     | Pertes fœtales  | Pré-éclampsie                     | -                           |              |
|                         | Retard de croissance in utero (RCIU)                                | Insuffisance                      |                             |              |
|                         | HELLP Syndrome Hemolysis Elevated Liver enzymes Low Platelet count. | Utéroplacentaire                  |                             |              |
|                         |   |                                   |                             |              |
| <b>Cardiaque</b>        | Infarctus du myocarde (IDM)   | Athérosclérose                    | Infarctus du myocarde (IDM) |              |
|                         | Valvulopathies  | Embolie Périphérique              | Microthrombi myocardiques   |              |
|                         | Végétations valvulaires   |                                   | Valvulopathies              |              |
| <b>Cutanée</b>          | Thrombophlébite superficielle                                       | Infarctus cutané                  | Livedo reticularis          |              |
|                         | Ulcères de jambe  | Orteils pourpres                  | Gangrène superficielle      |              |
|                         | Ischémie cutanée distale  | Acrocyanose                       | Nodules sous-cutanés        |              |
| <b>Digestive</b>        | Syndrome de Budd-Chiari   | Colite ischémique                 | Infarctus ou Gangrène :     |              |
|                         | Infarctus hépatique   | Perforation œsophagienne          |                             | Intestinale  |
|                         | Infarctus intestinal  | Pancréatite                       |                             | Hépatique    |
|                         | Infarctus splénique   | Ascite                            |                             | Pancréatique |
|                         | Infarctus de la vésicule biliaire                                   |                                   |                             | Splénique    |
| <b>Hématologique</b>    | Thrombopénie  | Syndrome catastrophique des aPL   |                             |              |
|                         | Anémie hémolytique auto-immune (AHA)                                |                                   |                             |              |
|                         | Syndrome hémolytique et urémique (SHU)                              |                                   |                             |              |
|                         | Purpura thrombopénique idiopathique (PTI)                           |                                   |                             |              |
| <b>Pulmonaire</b>       | Embolie pulmonaire  | Syndrome de détresse respiratoire |                             |              |
|                         | Hypertension artérielle pulmonaire (HTAP)                           |                                   |                             |              |
|                         | Thrombose artérielle pulmonaire                                     | Hémorragie alvéolaire             |                             |              |
| <b>Ophthalmologique</b> | Thromboses des artères rétinienne                                   | Rétinite                          |                             |              |
|                         | Thromboses des veines rétinienne                                    |                                   |                             |              |
| <b>Neurologique</b>     | Accident ischémique transitoire (AIT)                               | Encéphalopathie                   | Microthrombi                |              |
|                         | AVC thrombotiques ou emboliques                                     | Chorée                            | Micro-infarctus             |              |
|                         | Thrombose veineuse cérébrale  |                                   |                             |              |

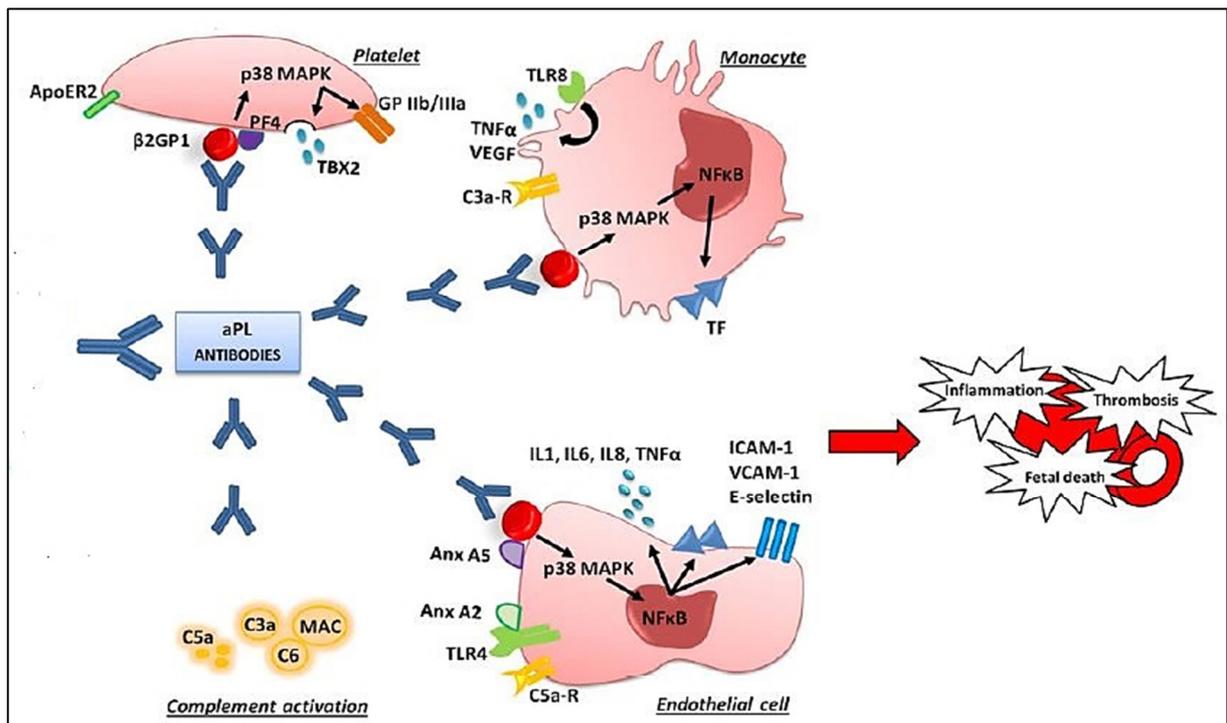
**I-2-4. Physiopathologie du SAPL**

Dans sa majeure partie la physiopathologie du SAPL est mal connue. Néanmoins, ils existent plusieurs hypothèses proposées afin d'expliquer les mécanismes cellulaires et surtout moléculaires via lesquels les aPL seraient à l'origine des thromboses et des complications obstétricales. (Figure 3)(Comarmond *et al.*, 2013).

**I-2-4-1. A l'échelon cellulaire :** (figure 3)

Les aPL ont une action sur :

- les plaquettes sanguines,
- les cellules endothéliales vasculaires,
- les monocytes sanguins.



**Figure 3 : Physiopathologie du SAPL.**  
(Comarmond *et al.*, 2013)

#### I-2-4-1-1. Activation des plaquettes sanguines

Une thrombopénie auto-immune est décrite, chez environ 30 % des patients atteints d'un SAPL (Maus *et al.*, 2011), il faut savoir qu'au cours d'un SAPL, l'activation des plaquettes sanguines a un effet essentiellement pro-thrombotique dû à l'interaction du complexe " $\beta$ 2GPI/anti- $\beta$ 2GPI" avec le facteur plaquettaire (PF4) (Comarmond *et al.*, 2013). Cette dernière active la p38MAPK, capable de phosphoryler la PLA2 (Phospholipase A2) conduisant à la libération d'acide arachidonique puis de TXA2 (Thromboxane A2) (Pennings *et al.*, 2007). Chose qui a été démontrée, depuis longtemps, suite à l'observation d'une excrétion urinaire des métabolites du TXA2 plus importante chez les patients atteints d'un SAPL en comparaison aux sujets sains (Lellouche *et al.*, 1991) (Figure 3).

#### I-2-4-1-2. Activation des Cellules Endothéliales

A l'état physiologique, les cellules endothéliales possèdent des propriétés anticoagulantes empêchant, ainsi, la formation de thromboses ou de caillots dans la lumière des vaisseaux sanguins, les anticorps antiphospholipides sont capables d'abolir cet effet anticoagulant, en activant les cellules endothéliales pour leur conférer un phénotype procoagulant en l'absence de toute brèche vasculaire (Pierangeli *et al.*, 2002). Cependant, Des études ont montré que le complexe trivalent ( $\beta$ 2GPI/anti- $\beta$ 2glyII/ $\beta$ 2glyI) interagit avec l'Annexine A2 ou A5 (Romay *et al.*, 2009) et les récepteurs TLR (TLR2 et TLR4) pour activer la protéine adaptatrice (MyD88) (Raschi *et al.*, 2003). La cascade de signalisation, se poursuit par l'activation de la p38MAPK (Vega *et al.*, 2005), qui phosphoryle de nombreux substrats, le résultat final se traduit par une augmentation de l'expression des facteurs tissulaires de molécules d'adhésion dont ICAM-1, VCAM-1 et la E-selectine. La répercussion en est des effets vasculaires en particulier, l'adhésion des leucocytes à la surface de l'endothélium vasculaire participant aux manifestations thrombotiques du SAPL (Masliah *et al.*, 2012) (Figure 3).

#### I-2-4-1-3. Activation des Monocytes Sanguins

L'activation des Monocytes Sanguins induite par les aPL s'accompagne d'une surexpression de Facteurs tissulaires (FT), des cytokines pro-inflammatoires dont le TNF $\alpha$  (Masliah *et al.*, 2012). Cette tendance pro-coagulante et pro-inflammatoire participe activement à la formation des thromboses dans le SAPL. Les voies de signalisation impliquées dans l'activation des monocytes présentent de nombreux effecteurs communs avec l'activation endothéliale. Ainsi la fixation des anti-B2GPI/B2GPI à la surface des monocytes poursuivra par l'activation de la p38MAPK, puis par l'expression de FT et de TNF $\alpha$  (Sorice *et al.*, 2007) (Figure 3).

### I-2-4-2. A l'échelle Moléculaire

Les aPL sont capables de diminuer l'activité des inhibiteurs physiologiques de l'hémostase, ceci via :

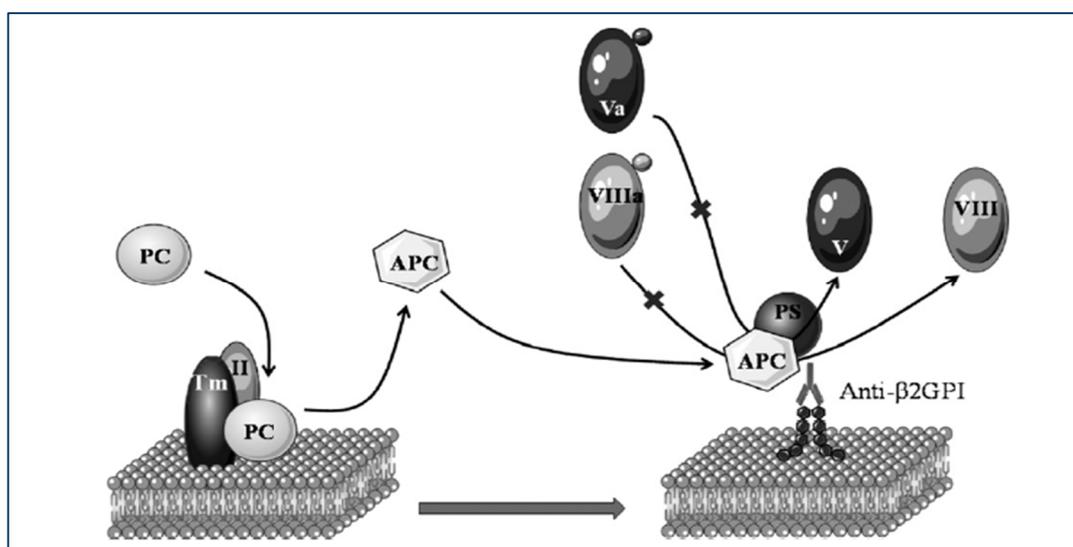
#### I-2-4-2-1. Inhibition du Système "Protéine C-Protéine S"

Au cours du processus de coagulation, une fraction de la thrombine générée est capable de se lier à la thrombomoduline à la surface des cellules endothéliales pour activer la protéine C fixée à ce niveau par l'EPCR (Endothelial Protein C Receptor). Cette protéine C va, ainsi, interagir avec son cofacteur, la Protéine S libre et exercer son effet anticoagulant en inactivant les facteurs Va et VIIIa, par clivage enzymatique, (Masliah *et al.*, 2012)(Figure 3).

De nombreuses études ont montré que les aPL étaient capables d'interférer avec la voie de la protéine C :

- Empêchant l'activation de la Protéine C (Cariou *et al.*, 1988)
- Perturbant la formation du complexe "Protéine C activée - facteurs Va et VIIIa" ;
- Induisant un déficit fonctionnel en Protéine S

Les effets procoagulants qui en résultent permettent, en partie, d'expliquer la survenue d'événements thromboemboliques veineux chez les patients atteints d'un SAPL, (Masliah *et al.*, 2012).



**Figure 4 : Modèle d'inactivation du système protéine C/protéine S par les anti-B2 glyI.**  
(Masliah *et al.*, 2012)

#### I-2-4-2-2. Inhibition de l'effet anticoagulant de l'Annexine A5

Dans les conditions physiologiques, la couche externe de la membrane cellulaire est relativement pauvre en phospholipides (PL) anioniques comme la phosphatidylsérine. Pourtant, au cours de l'apoptose ou de divers processus d'activation cellulaire, on peut observer une exposition de molécules de phosphatidylsérine, sur le feuillet externe de la membrane plasmique.

L'Annexine A5 est une protéine capable de venir recouvrir les molécules de phosphatidylsérine, au cours de l'activation plaquettaire, pour former un bouclier protecteur qui va diminuer la disponibilité des PL anioniques pour les enzymes de la coagulation et exercer, ainsi, une action anticoagulante (Andree *et al.*, 1992). Or, les anticorps anti-B2 GPI avec affinité aux PL anioniques empêchent la mise en place du bouclier protecteur d'Annexine A5 inhibant ses propriétés anticoagulantes (DeLaat *et al.*, 2007). Ce blocage de l'Annexine A5 par les aPL serait corrélé à des manifestations cliniques thrombotiques et obstétricales (Rand *et al.*, 1997).

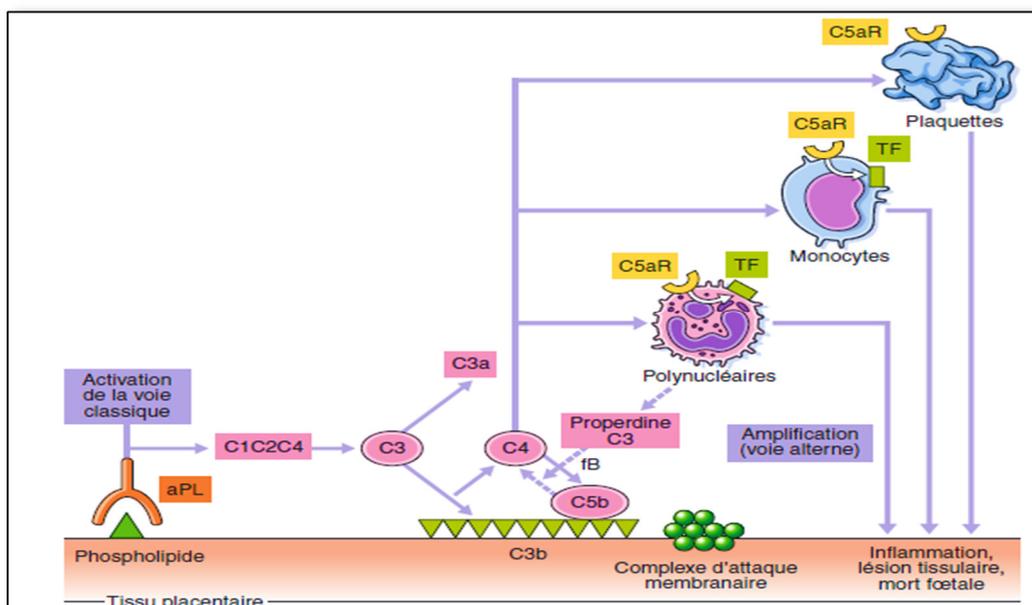
#### I-2-4-2-3. Rôle du complément

C'est au travers d'un modèle murin de SAPL obstétrical que le rôle de la cascade du complément à l'origine des manifestations obstétricales, induit par les anticorps antiphospholipides a été démontré.

L'implication du complément est attestée par l'absence de résorption fœtale, si les souris sont K.O pour le gène du C3 ou si elles reçoivent simultanément une protéine de fusion qui s'oppose à l'action de la C3 convertase classique et alterne, bloquant ainsi l'activation du complément (Holers *et al.*, 2002). Il est possible d'inhiber le SAPL obstétrical dans ce modèle murin en utilisant des souris génétiquement déficitaires en C5 ou en C5aR (Girardi *et al.*, 2003)

Que se passe-t-il en aval de cette activation complémentaire par les antiphospholipides fixés sur les membranes trophoblastiques ou vasculaires ? Trois phénomènes semblent survenir :

- Une production accrue de TNF $\alpha$
- Une expression accrue de FT
- Une libération importante de récepteur soluble de type 1 du VEGF (sVEGFR-1) ou sFlt-1, molécule puissamment antiangiogénique, ce qui va freiner le développement normal du placenta, et conduire aux complications obstétricales. (Berman *et al.*, 2005; Girardi *et al.*, 2006)



**Figure 5 : Rôle de l’activation du complément dans les pertes fœtales induites par les aPL.**(Meyer, 2007)

**I-2-5. Critères de Classification et de Diagnostic**

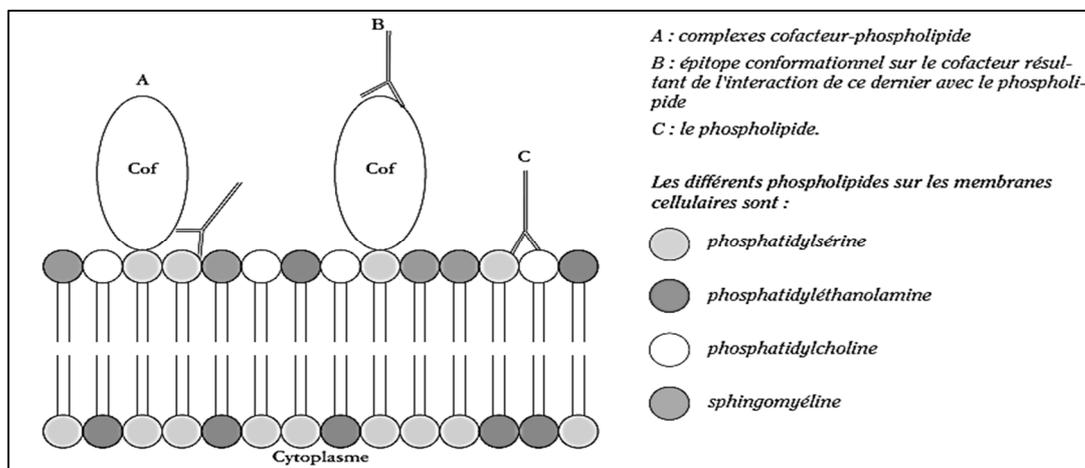
Le SAPL est caractérisé par son hétérogénéité et ses critères de diagnostic évolutifs, aussi bien sur le plan clinique que biologique. Cependant, des critères cliniques et biologiques ont été actualisés lors du 8<sup>ème</sup> Symposium international sur les aPL de Sapporo et publiés en 1999 (voir annexe A) (Wilson *et al.*, 1999), En 2004 à Sydney, une conférence préalable du 11<sup>ème</sup> Congrès international des aPL a permis la révision des critères de Sapporo lesquels souffraient d'un manque de spécificité et de sensibilité. De nouveaux critères de Sydney ont été publiés, en 2006 (Tableau 2) (Miyakis *et al.*, 2006).

**Tableau 2 : Critères révisés de Sydney 2006.**

| Critères de Sydney 2006  |   |
|--|---|
| Critères Cliniques   | Critères Biologiques  |
| <p><b>Une Manifestation Clinique :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Thromboses vasculaires :</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Artérielles</li> <li>○ Veineuses profondes</li> <li>○ Capillaires</li> </ul> </li> <li>• <b>Complications obstétricales :</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ ≥ 1 mort fœtale in utero inexplicée</li> <li>○ ≥ 1 accouchement prématuré suite à :                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- Une pré-éclampsie sévère</li> <li>- Une éclampsie</li> <li>- Une insuffisance placentaire</li> </ul> </li> <li>○ ≥ 3 avortements (fausses couches) spontanés consécutifs inexplicés.</li> </ul> </li> </ul> | <p><b>Une Anomalie Biologique :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Anticoagulant circulant de type lupique</b></li> <li>• <b>Anticorps anti-cardiolipine IgG ou IgM</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ &gt; 40 GPL (pour les IgG)</li> <li>○ &gt; 40 MPL (pour les IgM)</li> </ul> </li> <li>• <b>Anticorps anti-β2-GPI IgG ou IgM</b></li> </ul> <p><b>A deux déterminations séparées de 12 semaines ou plus.</b></p> |

### I-3. Les anticorps anti-phospholipides et diversité antigéniques

Le terme d'aPL regroupe une famille très hétérogène d'anticorps circulants qui reconnaissent aussi bien des phospholipides (PL) anioniques que neutres, ou des protéines se fixant sur les PL (les cofacteurs). (Figure 6).



**Figure 6 : Diversité des cibles antigéniques des aPL.**  
(Sanmarco, 2001).

#### I-3-1. Anti-phospholipides conventionnels

Les aPL sont traditionnellement classés en deux groupes (Arnout *et al.*, 2003; Roubey, 1996) en accord avec leurs méthodes de détection (Wahl *et al.*, 2007) :

- Les aPLs mis en évidence par des réactions immuno-enzymatiques, c'est le cas des aCL et des anticorps anti-bêta2-glycoprotéine I ( $\alpha\beta 2$ -GPI).
- Les aPLs mis en évidence par des tests fonctionnels de la coagulation : c'est le cas du Lupus anticoagulant (LA) (Sanmarco, 2011).

#### I-3-1-1. Anticorps anti-cardiolipine

La cardiolipine (ou cardiolipide) est un constituant de la membrane interne des mitochondries où elle a pour rôle de rendre cette membrane imperméable aux ions. Elle est souvent complexée au LDL au niveau du plasma humain normal (Deguchi *et al.*, 2000)

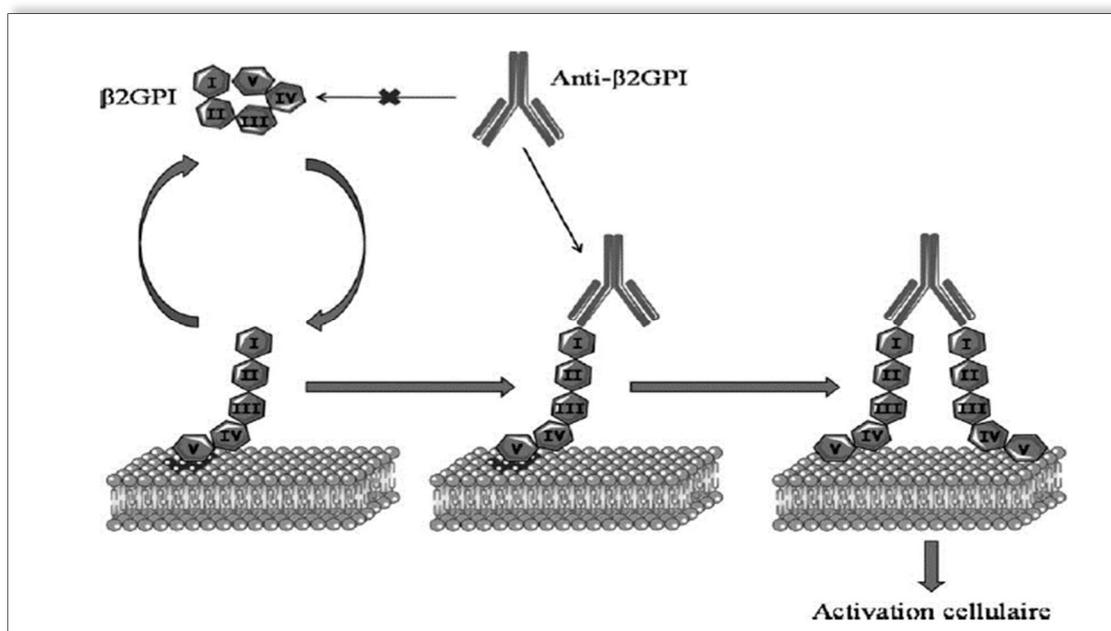
Les aCL étant polyspécifiques sont capables de reconnaître la plupart des phospholipides. Leur réactivité vis-à-vis de la phosphatidylsérine et de la cardiolipine est quasi-identique.

Il en existe deux catégories (Ellouze *et al.*, 2011) :

- Les aCL vrais ( $\beta$ 2-GPI indépendants) : produits lors des infections et souvent transitoires, présents à un faible taux. (Ellouze *et al.*, 2011; Levy *et al.*, 2004)
- Les aCL ( $\beta$ 2-GPI dépendants) : ciblant le complexe "cardiolipine- $\beta$ 2-GPI". (Ellouze *et al.*, 2011; Matsuura *et al.*, 1992) produits au cours du SAPL.

### I-3-1-2. Anticorps anti Bêta-2-Glycoprotéine I ( $\beta$ 2-GPI)

La  $\beta$ 2-GPI également appelée Apo-lipoprotéine H, est une glycoprotéine plasmatique (Sanmarco, 2011; Schultze *et al.*, 1961) synthétisée, principalement, par le foie, les cellules endothéliales et le placenta. Elle existe sous deux états conformationnels : l'un circulaire et l'autre ouvert et lié aux PL (Figure 7). (Agar *et al.*, 2010).



**Figure 7 : Modèle général d'activation cellulaire par les anti- $\beta$ 2-glyI.**  
(Masliah *et al.*, 2012)

Les anti- $\beta$ 2-GPI provoquent une dimérisation de la  $\beta$ 2-GPI à l'origine d'une augmentation de l'affinité de ce complexe pour les surfaces anioniques. Des études publiées suggèrent que la dimérisation de la  $\beta$ 2-GPI, induite par ces aPL, *in vivo*, serait responsable des manifestations cliniques du SAPL, en perturbant l'activité des inhibiteurs physiologiques de la coagulation, en inhibant le système fibrinolytique et en activant des cibles cellulaires comme les plaquettes sanguines, les cellules endothéliales et les monocytes (Masliah *et al.*, 2012).

**I-3-1-3. Lupus Anticoagulant (LA)**

Le terme de LA désigne des anticorps définis par leur capacité à prolonger certains tests de coagulation dépendants des PL. Il est admis que ces anticorps reconnaissent des cofacteurs protéiques liés aux PL anioniques. Les principaux cofacteurs des LA sont la  $\beta$ 2-GPI et la prothrombine. Il est important à noter que les LA et les aPL, mis en évidence par des techniques immuno-enzymatiques, peuvent être des entités distinctes. Bien que ces anticorps soient fréquemment associés au SAPL, leur sensibilité n'est que de 60% et, donc, il convient de rechercher les aPL avec des tests immunologiques et des tests d'hémostase (Sanmarco, 2001).

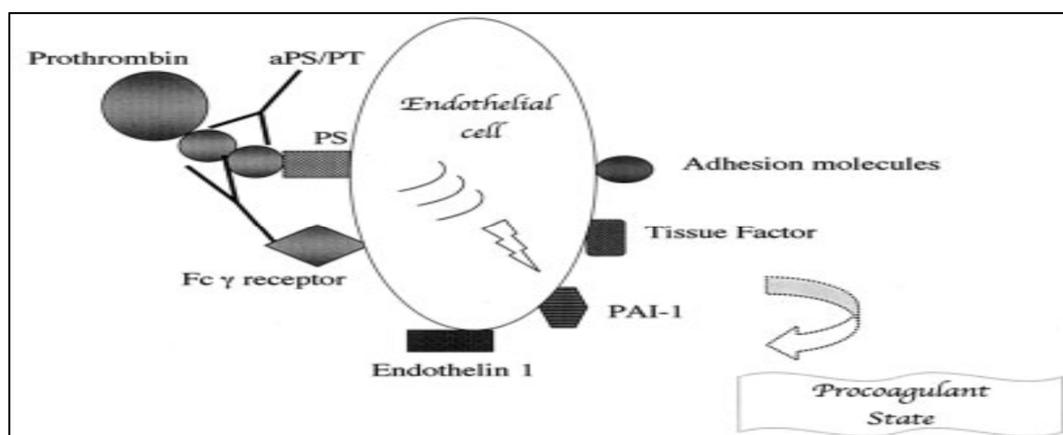
**I-3-2. Anti-Phospholipides non-conventionnels**

D'autres aPL sont décrits comme, les anticorps anti-phosphatidyl Ethanolamine (aPE), anti-phosphatidylsérine(aPS), anti-phosphatidyl inositol(aPI), anti-sphingomyéline(aSPH), anti-phosphatidyl cholin(aPC), anti-prothrombine(aPT), anti-Annexine A5, ... etc.

Ces différentes spécificités constituent des pièces du « puzzle des aPL ». Certains de ces anticorps sont anecdotiques alors que d'autres, en particulier les anticorps anti-prothrombine et les aPE comme ils sont associés, fréquemment, aux complications cliniques du SAPL peuvent apporter une réelle aide au diagnostic. (Sanmarco, 2001).

**I-3-2-1. Anticorps Anti-Prothrombine et complexe antiphosphatidylsérine/prothrombine**

La prothrombine humaine ou facteur II, fait partie du complexe pro-thrombinase avec les facteurs Va, Xa et la phosphatidylsérine, en présence de calcium (Bajaj *et al.*, 1983) Les anti-prothrombines (IgG ou IgM) sont hétérogènes quant à leur spécificité antigénique. De plus, la mise en évidence de ces anticorps a permis d'identifier deux populations d'anticorps : ceux dirigés contre la prothrombine (aPT) et ceux dirigés contre le complexe phosphatidylsérine-prothrombine (aPS/PT). Ces deux populations sont souvent présentes, simultanément, chez un même patient mais les complexes aPS/PT sont étroitement associés au SAPL.(Sanmarco, 2011). (Figure 8).



**Figure 8 :** Mécanisme d'interaction des aPS/PT, prothrombine, phosphatidylsérine et activation endothéliale (Amengual *et al.*, 2003)

**I-3-2-2. Anticorps anti-Annexine A5**

L'Annexine A5 est une protéine placentaire retrouvée en faible concentration, dans le plasma humain. Elle exerce une puissante activité anticoagulante. Certaines études ont décrit la production d'anticorps anti-Annexine A5 chez des patientes présentant des événements cliniques évocateurs d'un SAPL (thromboses et/ou pertes fœtales) (Harris *et al.*, 1983)

**I-3-2-3. Anti-Phosphatidyl Ethanolamine et anti-Phosphatidyl Sérine**

La PS et la PE sont des Amino-phospholipides séquestrés au niveau du feuillet Interne de la membrane plasmique, puis exposés à la surface de la cellule après activation ou mort cellulaire. Ce phénomène, rend sans doute, *in vivo*, la production simultanée d'anticorps contre plusieurs protéines de liaison des PL (Sanmarco, 2001) . Cependant, le mécanisme avec lequel ces structures deviennent immunogènes n'est pas bien élucidé. (Kassis, 2006) .

**I-3-2-3-1.les anticorps anti-phosphatidyl Ethanolamine :**

Les aPE sont souvent d'isotype IgM observés dans le SAPL mais également dans des contextes de thromboses inexplicées. Certains aPE sont dépendants de cofacteurs plasmatiques, notamment, d'isotype IgG très dépendants de cofacteurs dont le kininogène de haut poids moléculaire (HMWK) 110kDa. (Sanmarco, 2001).

A l'état actuel des connaissances, ces anticorps ne sont pas corrélés à une complication ou un tableau clinique particulier, mais les IgM aPE sont plus souvent associées aux pertes fœtales récidivantes que les autres marqueurs du SAPL.(Sanmarco, 2001)

**I-3-2-3-2.Les anticorps antiphosphatidylsérine :**

Certaines études menées sur des rongeurs utilisant des IgG et IgM aPS humaines injectées à des rats, ont montré que les IgG aPS entraînent une augmentation de la fréquence de la résorption fœtale (McIntyre *et al.*, 2003).

**I-3-2-4. Anticorps Anti-Phosphatidyl Choline**

Ce sont des anticorps d'isotype IgM qui ne semble pas dépendant de la  $\beta$ 2-GPI. Ces anticorps seraient associés aux Anémies Hémolytiques Auto-Immunes (AHAI), idiopathiques ou secondaires au Lupus Erythémateux Systémique (LES) (Bajaj *et al.*, 1983; Cabral *et al.*, 1996).

**I-3-2-5.Anticorps anti-phosphatidyl inositol et les anticorps anti-sphingomyéline**

Pas de données trouvées sur ces deux auto-anticorps.

## Chapitre II : Matériels & Méthodes

Ce présent travail, s'est déroulée au service d'auto-immunité du département d'Immunologie de l'Institut Pasteur d'Algérie (Delly Brahim) durant 6 mois et cela à partir du 12 Février jusqu'au 12 aout, Il consiste en une étude transversale, qui a pour objectif de :

1. Déterminer le profil en auto-anticorps conventionnels dans le SAPL.
2. Montrer l'intérêt de rechercher des auto-anticorps non conventionnels dans le diagnostic de ce syndrome.
3. Rechercher des corrélations clinico-biologiques chez ces mêmes patients.

## **II-1. Matériels**

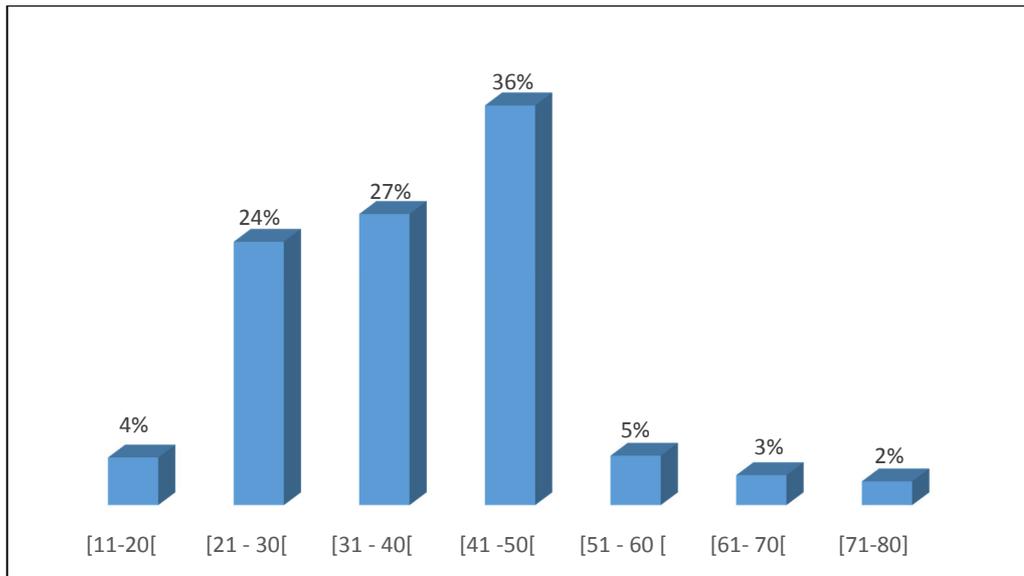
### **II-1-1. Population Etudiée et Matériel Biologique**

La population étudiée est constituée de 170 patients, présentant des signes évocateurs d'un SAPL. Le recrutement a été effectué au sein du centre de prélèvements de l'Institut Pasteur d'Algérie (IPA), les patients étant adressés par des praticiens généralistes et spécialistes issus des deux secteurs "privé et public. Différentes spécialités en sont représentées, essentiellement : Médecine Interne, Gynéco-obstétrique, Dermatologie, Neurologie, Néphrologie, Rhumatologie, etc. Les renseignements cliniques ont été recueillis à partir des « fiches de renseignement » (voir Annexe) regroupent les données cliniques et biologiques des patients.

Dans cette population, l'âge varie entre 3 et 74 ans avec une moyenne de 38 ( $\pm$  12) ans. Il est important à retenir que :

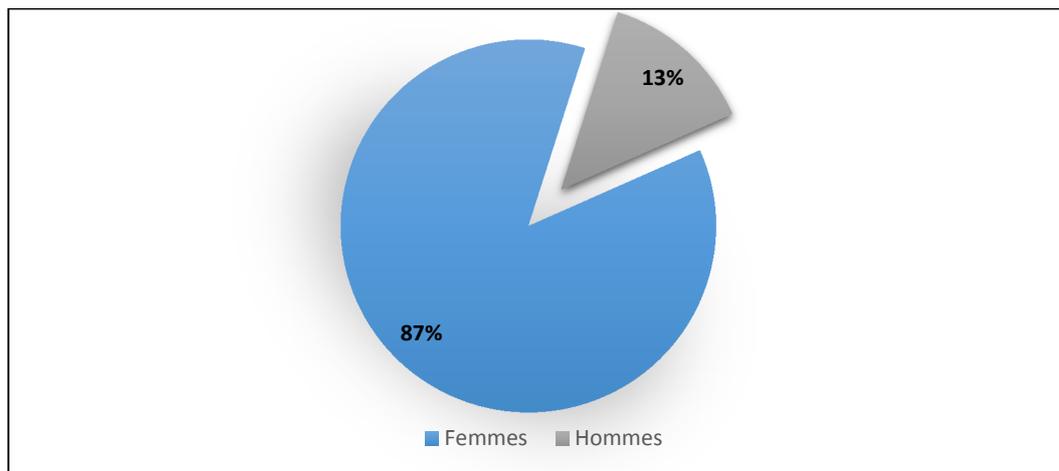
- 4 patients (2%) ont développé un SAPL avant l'âge de 16 ans (enfants).
- 5 patients (3%) ont développé un SAPL au-delà de 60 ans.

La tranche d'âge la plus représentée étant celle comprise entre 41 et 50 ans (Figure 8) avec une nette prédominance féminine (54 ♀ vs.7 ♂) soit 89% de femmes vs. 11% d'hommes, pour cette tranche d'âge (41- 50 ans) (Figure 9).



**Figure 9 : Répartition des patients selon l'âge.**

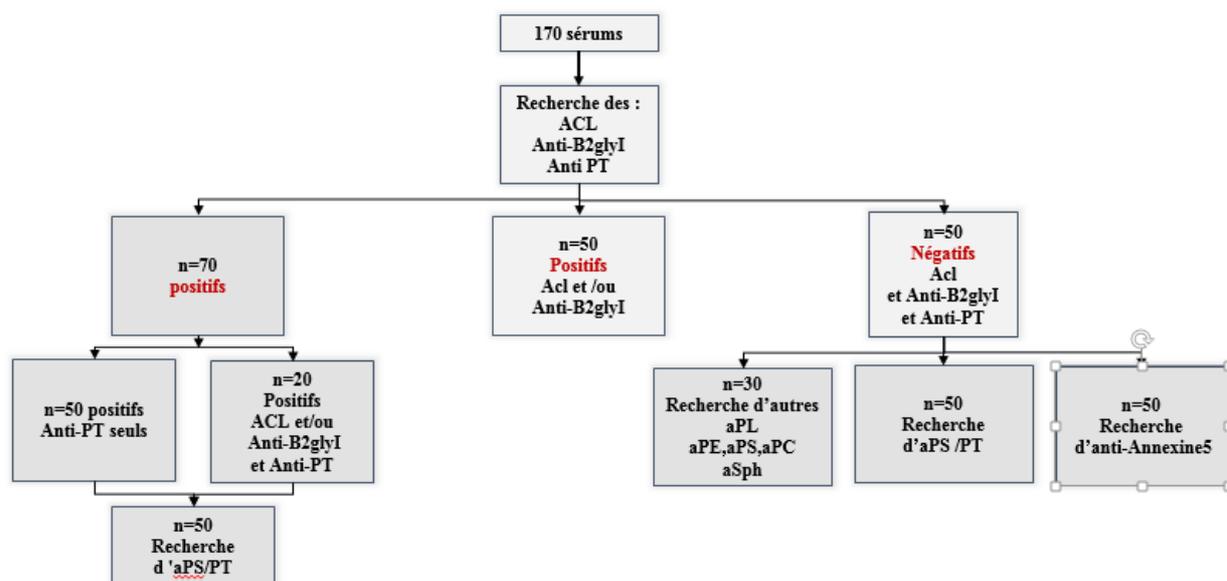
Notre population malade comprend 147 femmes (87%) vs, 23 hommes (13%) soit un sex-ratio de 1/6 (1♂/6♀) (Figure 10).



**Figure 10 : Répartition des patients selon le sexe.**

Quant à la sélection des dits-patients elle s'est basée sur ceux remplissant les critères de diagnostic du SAPL, du moins cliniquement parlant (manifestations thromboemboliques, grosses compliquées et autres).

Un prélèvement de sang veineux a été fait chez tous les patients sur tube sec. La recherche des auto-anticorps a été faite sur le sérum des patients (170 sérums), Figure 11.



**Figure 11 : Profil sérologique des patients étudiés.**

## II-1-2. Matériel non Biologique

La réalisation de cette étude nécessite une variété d'appareillages et de réactifs (voir Tableau I de l'annexe B).

## II-2. METHODES

### II-2-1. Recherche des aPL "aCL + anti-β2GPI + aPT" par Immunofluorimétrie en Flux (Technologie Multiplex)

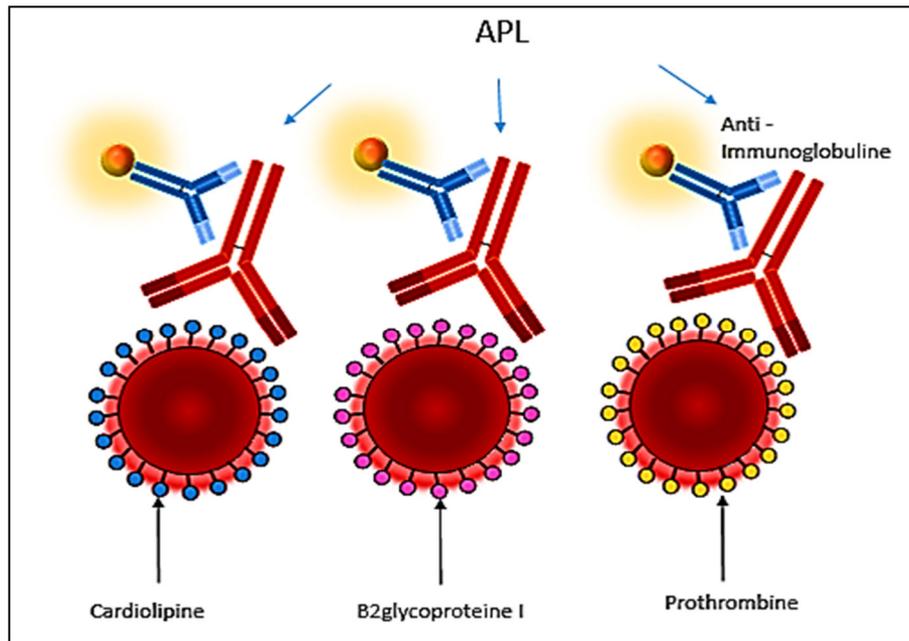
#### II-2-1-1. Principe

La technologie Multiplex commercialisée par la firme Luminex™ (Austin, Texas) permet la recherche simultanée de différents analytes dans un même puits réactionnel. Dans le domaine de l'auto-immunité, l'intérêt de ces analyses multiparamétriques est évident.

Des billes de **polystyrène** de **5,6 μm** de diamètre sont colorées par l'incorporation de **deux marqueurs fluorescents** rouge et orange en quantité variable, générant ainsi **100 types de billes** différentes, chacune caractérisée par un code couleur. Sur chaque type de bille, un antigène différent peut être fixé de façon covalente, le plus souvent par l'intermédiaire d'un groupement aminé et des fonctions carboxyliques portées par les billes. A l'étape finale, la suspension de billes est entraînée dans une veine liquide et chaque bille passe dans le faisceau de deux lasers d'un cytomètre appelé, également, **Fluorimètre en Flux**, interfacé avec un système informatique de digitalisation et de traitement de signal :

- **Le laser rouge (635 nm)** identifie le **code couleur** de la bille, donc, l'auto-antigène par sa fluorescence intrinsèque.
- **Le laser vert (532 nm)** mesure la **quantité de conjugué fluorochrome**, donc, d'aPL fixés à la surface de la bille. (Sénant *et al.*, 2015)

Le coffret FIDIS™ APS IgG /IgM permet la détection d'aPL d'isotype IgG et IgM : aCL, anti-β2GPI et anti-PT(FII) (Fig. 11).



**Figure 12** : Principe d'Immunofluorimétrie en Flux (Technologie Multiplex)(original)

## II-2-1-2. Protocole

### II-2-1-2-1. Préparation des Réactifs

Les réactifs du coffret doivent être remis à température ambiante (entre +18°C et 25°C) avant de préparer les mélanges réactionnels de manière extemporanée.

- **Préparation des Microsphères**
  1. Sonication des microsphères afin d'éliminer toute agglutination des particules.
  2. Reconstitution de la solution de microsphères en rajoutant le tampon de reconstitution (fourni dans le coffret).
- **Préparation des échantillons et des contrôles**

Les échantillons (sérums des patients) et les contrôles sont dilués au 1: 101 dans le tampon de dilution des échantillons (diluer 10 µl de sérum dans 1000 µl de tampon de dilution).

#### II-2-1-2-2. Mode Opératoire

- Distribuer 50 µl de microsphères dans chaque micropuits réactionnel, d'une microplaque à filtre.
- Déposer 100 µl des contrôles négatif et positif (dilués au 1 :101) dans les micropuits correspondant.
- Déposer 100 µl du sérum de chaque patient (dilué au 1 :101) dans le micropuits correspondant.
- Incuber 30 mn à T° ambiante.
- Effectuer 3 cycles de lavage grâce à un laveur à filtre (aspiration d'en bas de la microplaque) afin d'éliminer tout ce qui ne s'est pas fixé.
- Retirer la microplaque du laveur et la poser sur une surface totalement sèche.
- Déposer 100 µl du conjugué fluorochrome (Ac anti-Ig humaine marqué par un fluorochrome).
- Incuber 30 mn à l'obscurité à T) ambiante.
- Effectuer 3 cycles de lavage grâce à un laveur à filtre (aspiration d'en bas de la microplaque) afin d'éliminer tout ce qui ne s'est pas fixé.
- Déposer 100 µl du tampon de dilution dans chaque micropuits
- Lire la microplaque à l'Immunofluorimètre en Flux.

#### II-2-1-3. Interprétation des Résultats

Les résultats sont intégrés en tant que MFI (Médiane d'Intensité de Fluorescence) pour chaque micropuits. Les MFI étant traitées grâce à un logiciel informatique "le MLX-Booster" qui convertit, automatiquement, les MFI en unités arbitraires GPL ou MPL :

- GPL : pour aPL d'isotype IgG.
- MPL : pour aPL d'isotype IgM.

Un résultat est considéré comme :

- Négatif :  $x < 10$  GPL ou MPL
- Douteux :  $10 < x < 15$  GPL ou MPL.
- Positif :  $x > 15$  GPL ou MPL.

## **II-2-2. Recherche des aPL par technique Immuno-enzymatique type ELISA**

Grâce à la technique immuno-enzymatique ELISA a pu être effectuée la détection :

1. Semi-quantitative des aPL : aCL, anti- $\beta$ 2GPI, anti-complexe "CL +  $\beta$ 2GPI", aPS, aPI, aPC, aPE et aSP des deux isotypes (IgG et IgM) [AESKU-LISA™ Phospholipides 8 Pro-GM].
2. Quantitative des Ac anti-complexe "Phosphatidylsérine/Prothrombine" des deux isotypes (IgG et IgM) [QUANTA-Lite™ anti- Phosphatidylserine/Prothrombine GM].
3. Quantitative des Ac anti-Annexine V des deux isotypes (IgG et IgM) [AESKU-LISA™ anti-Annexin V-GM].

Les antigènes purifiés sont fixés au fond des puits des microplaques de titration.

### **II-2-2-1. Principe**

La technique immuno-enzymatique type ELISA (Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay) permet la détection d'un anticorps ou d'un antigène censé être contenu dans l'échantillon (le sérum d'un sujet sain ou malade).

Ce test se fait en plusieurs étapes :

- Un antigène (ou un anticorps) est fixé au fond des puits d'une microplaque de titration.
- Un échantillon dilué (sérum) contenant une concentration indéterminée d'anticorps (ou d'antigènes) est déposé dans les micropuits correspondant.
- Incubation pendant un temps et à une T° bien définis, auparavant.
- Cycles de lavage afin d'éliminer les anticorps non fixés.
- Déposer le conjugué enzymatique : un anti-Ig humaine marqué par une enzyme.
- Incubation pendant un temps et à une T° bien définis.
- Cycles de lavage afin d'éliminer le conjugué non fixé.
- Déposer le substrat de l'enzyme utilisée comme marqueur.
- Incubation pendant un temps et à une T° bien définis et à l'abri de la lumière.
- Déposer une solution d'arrêt de la réaction (en général, une solution acide).
- Lire la densité optique (DO) ou l'absorbance de chaque micropuits grâce à un spectrophotomètre à une longueur d'onde ( $\lambda$ ) connue (en général,  $\lambda = 450$  nm).

(Site internet : [https://fr.wikipedia.org/wiki/M%C3%A9thode\\_immuno-enzymatique\\_ELISA](https://fr.wikipedia.org/wiki/M%C3%A9thode_immuno-enzymatique_ELISA) )

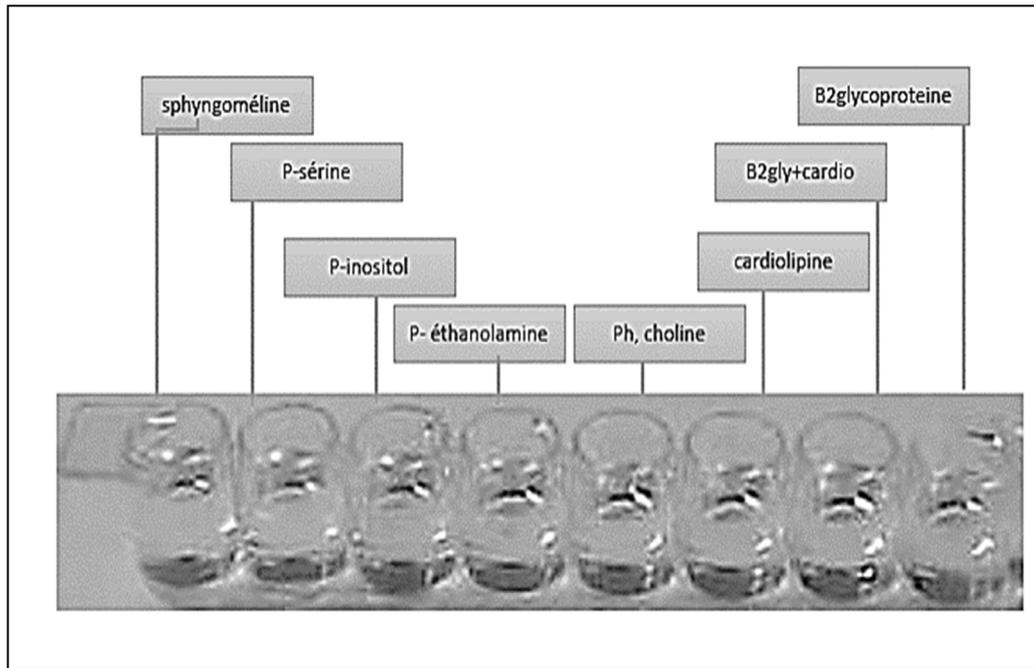
## **II-2-2-2. Protocole**

### II-2-2-2-1. Préparation des Réactifs

1. Diluer le concentré du tampon de dilution des échantillons au 1 :5 dans de l'eau distillée (ex : diluer 10 ml de concentré du tampon de dilution dans 40 ml d'eau distillée pour obtenir le tampon d'échantillon final).
2. Diluer les sérums des patients au 1 :101 dans le tampon d'échantillon (ex : diluer 10 µl de sérum dans 1000 µl de tampon d'échantillon pour obtenir la dilution de l'échantillon).
3. Diluer le concentré du tampon de lavage au 1 :50 dans de l'eau distillée (ex : diluer 20 ml de concentré de lavage dans 980 ml d'eau distillée pour obtenir le tampon de lavage final).

### II-2-2-2-2. Mode Opératoire

- Déposer 100 µl du sérum de chaque patient, dilué au 1 :101 dans du tampon, dans le micropuits correspondant.
- Déposer 100 µl des calibrateurs ainsi que les contrôles négatif et positif dans les micropuits correspondant :
  - Pour la détection quantitative des Ac aPS/PT et anti-Annexine V : utiliser des calibrateurs afin de créer une courbe d'étalonnage.
  - Pour la détection semi-quantitative des aPL : aCL, anti-β2GPI, anti-complexe "CL + β2GPI", aPS, aPI, aPC, aPE et aSP des deux isotypes (IgG et IgM) [AESKU-LISA™ Phospholipides 8 Pro] : utiliser des contrôles Cut-off (contrôles de référence) pour chaque antigène (voir Fig. 12).
- Incuber 30 mn à 20-32°C.
- Effectuer 3 cycles de lavage avec 300 µl du tampon de lavage (dilué au 1 :50).
- Déposer 100 µl du conjugué dans chaque micropuits.
- Incuber 30 mn à 20-32°C.
- Laver 3 fois avec 300 µl du tampon de lavage (dilué au 1 :50).
- Déposer 100 µl du substrat TMB dans chaque micropuits.
- Incuber 30 mn à 20-32°C, à l'abri de la lumière.
- Déposer 100 µl de la solution d'arrêt (HCL 1M) dans chaque micropuits.
- Incuber au minimum pendant 5 mn.
- Agiter doucement la plaque pendant 5 secondes.
- Lire l'absorbance à une longueur d'onde de 450 nm, dans les 30 mn qui suivent l'arrêt de la réaction.



**Figure 13 : Disposition des antigènes (SP, PS, PI, PE, PC, CL,  $\beta$ 2GPI + CL et  $\beta$ 2GPI) dans une microplaque ELISA.(original)**

### **II-2-2-3. Interprétation des Résultats**

Pour la détection quantitative, un résultat est considéré comme :

- Négatif :  $x < 12$  UR/ml.
- Douteux :  $12 < x < 18$  UR/ml.
- Positif :  $x > 18$  UR/ml.

[UR : Unités Relatives ou Arbitraires].

Pour la détection semi-quantitative : la DO de chaque puits est divisée par celle du Cut-off et un ratio est calculé :

- Négatif : ratio  $< 0,8$ .
- Douteux : ratio  $0,8 < x < 1,2$ .
- Positif : ratio  $> 1,2$ .

### **II-3. ANALYSE STATISTIQUE**

Dans cette étude, ont été effectuées :

1. Une analyse descriptive des caractéristiques biologiques et cliniques des patients : grâce à XLSTAT 2013.
2. Une analyse uni-variée pour comparer les groupes de patients : grâce au logiciel Graph-Pad Prism 5.
3. Une corrélation de Pearson : pour établir une corrélation entre la production des auto-anticorps.

Ces paramètres ont été calculés par le test de Khi-2 (variables quantitatives), et l'OR qui permet de quantifier le degré d'association d'un marqueur à une maladie avec un intervalle de confiance (IC) de 95, Les valeurs  $p < 0.05$  ont été considérées comme statistiquement significatives.

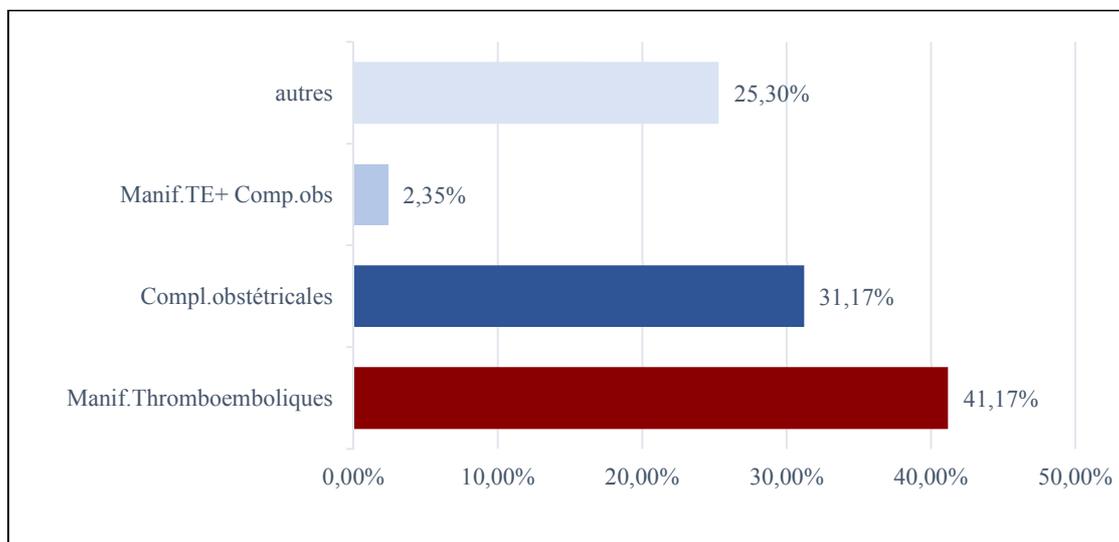
## Chapitre III : Résultats

### III. RÉSULTATS

#### III-1. Répartition des patients selon les manifestations cliniques

La population étudiée se caractérise par des symptômes cliniques variées (Figure 14) basées sur les critères de Sydney 2006 du SAPL en :

1. Manifestations thromboemboliques 41,2%, avec :
  - Thromboses veineuses,
  - Thromboses artérielles,
  - Embolies,
  - AVC, etc.
2. Complications obstétricales 31,2%, avec :
  - Avortements,
  - Pré-éclampsie,
  - Mort in utero, etc.
3. Association de "Manifestations Thromboemboliques + Complications obstétricales" 2,4%.
4. Autres manifestations 25,3% :
  - Syndrome Hémorragique,
  - Uvéites,
  - Thrombopénie auto-immune,
  - Connectivite, etc.

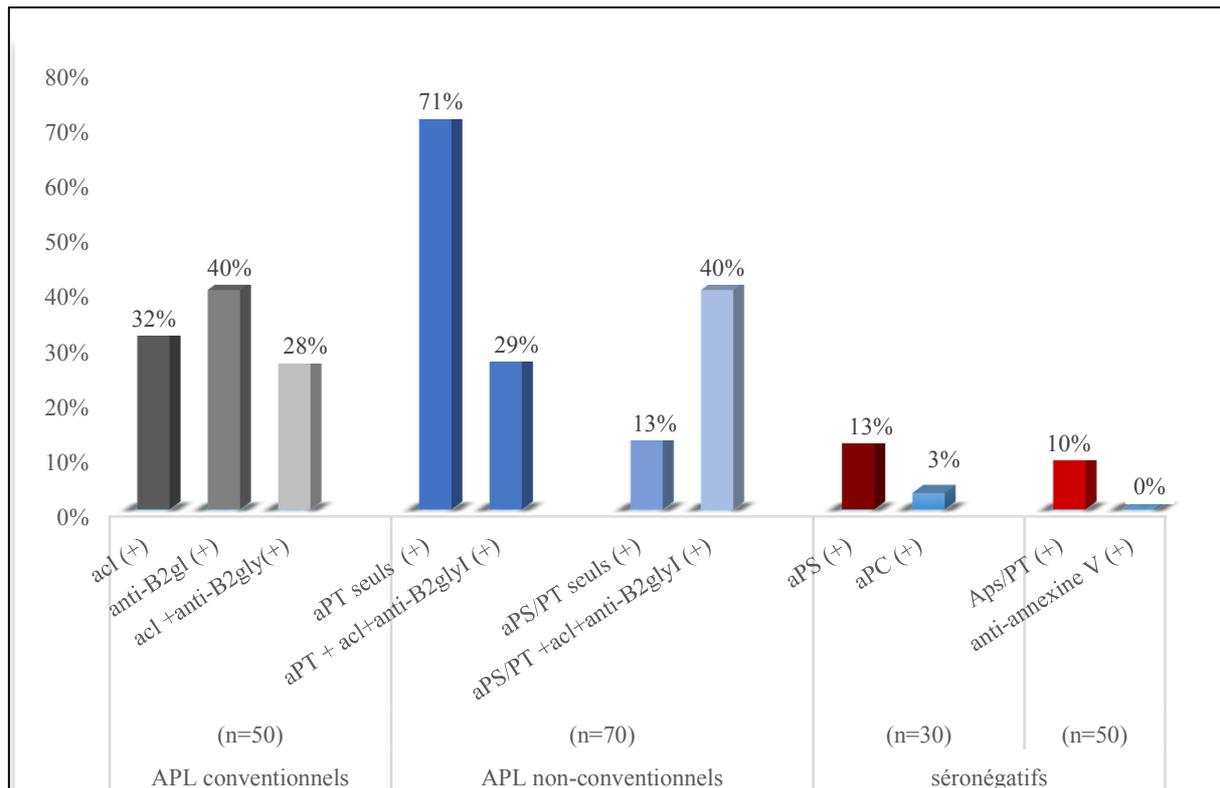


**Figure 14** : Répartition des patients selon les manifestations.

**III-2. Profil des aPL chez les patients étudiés** (Figure 15)

La population malade a été classifiée en trois groupes selon le profil de production des aPL qu'ils soient conventionnels ou non :

- **Groupe I : Patients produisant des aPL conventionnels "aCL et/ou anti-β2GPI"**
  - n = 50 patients.
  - Comprenant :
    - 16 (32%) avec aCL positifs.
    - 20 (40%) avec anti-β2GPI positifs.
    - 14 (28%) avec l'association des aCL et anti-β2GPI.
  
- **Groupe II : Patients produisant des aPL conventionnels "aCL et/ou anti-β2GPI" et non conventionnels de type "anti-PT".**
  - n = 70 patients.
  - Dans ce groupe, les anti-PT (Facteur II) étaient présents :
    - Seuls chez 50 (71%) patients : formant un premier sous-groupe.
    - Associés à d'autres anticorps aCL, anti-B2glyI chez 20 (29%) des patients : formant un second sous-groupe.
  - Dans ces sous-groupes, (suite à un manque de réactifs), quelques patients ont bénéficié de la recherche d'anticorps anti-complexe "PS/PT", il s'agit là de 30 patients du premier sous-groupe et de la totalité (20) du second.
  - Les résultats obtenus montrent la production d'anticorps anti-"PS/PT" dans :
    - Premier sous-groupe : 4 (13%) des patients.
    - Second sous-groupe : 8 (40%) des patients
  
- **Groupe III : Patients séronégatifs pour les aPL conventionnels.**
  - n = 50 patients.
  - Dans ce groupe, ont été recherchés les :
    - Anti-PS/PT,
    - aPE, aPC, aPS, aPI, aSP,
    - anti-Annexine V.
  - Les aPE, aPC, aPS, aPI et aSP n'ont pu être recherchés que chez 30 patients (faute de réactifs disponibles).
  - Les résultats obtenus montrent une production des anticorps :
    - Anti-PS/PT : chez 5 (10%) des patients.
    - aPS : 4 (13%) des patients.
    - aPC : 1 (3%) des patients.
    - Anti-Annexine V : chez aucun patient.



**Figure 15 : Profil des aPL chez les patients.**

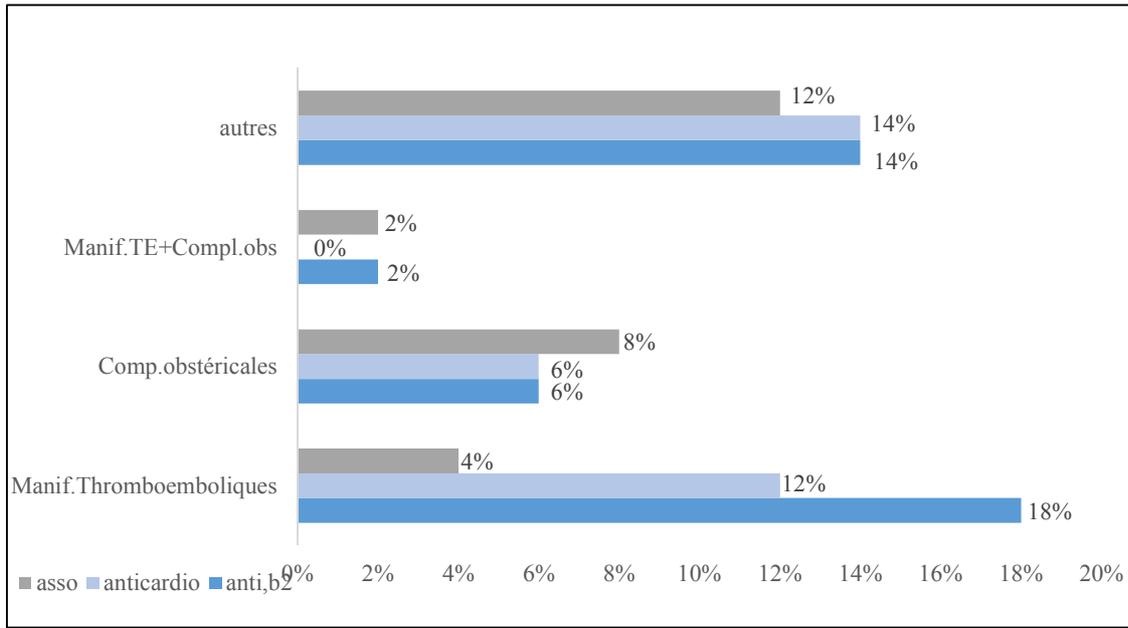
### III-3. Corrélation clinico-biologique

#### IV-3-1. Corrélation entre manifestations cliniques et production des anticorps conventionnels (Groupe I)

Les résultats obtenus montrent (Figure 16) :

- Clairement une association plus fréquente des manifestations thromboemboliques à la production des anticorps anti-β2GPI seuls plutôt qu'à celle des aCL ou encore celle des deux en même temps :
  - Anti-β2GPI seuls (+) : 18%.
  - aCL (+) : 12%.
  - Anti-β2GPI et aCL (+) : 4%.
- Quant aux complications obstétricales, elles sont beaucoup associées à la production des deux anticorps en même temps, avec 8% des cas :
  - Anti-β2GPI seuls (+) : 6%.
  - aCL (+) : 6%.
  - Anti-β2GPI et aCL (+) : 8%.
- Cependant, quand on prend les patients présentant les deux types de manifestations (Thromboemboliques + Complications Obstétricales), il semble qu'ils produisent des anti-Anti-β2GPI plutôt que des aCL :
  - Anti-β2GPI seuls (+) : 2%.
  - aCL (+) : 0%.

- Anti-β2GPI et aCL (+) : 2%.
- Enfin, concernant les patients présentant d'autres manifestations cliniques, on remarque une quasi-égalité entre les trois profils en aPL conventionnels à quelques détails près :
  - Anti-β2GPI seuls (+) : 14%.
  - aCL (+) : 14%.
  - Anti-β2GPI et aCL (+) : 12%.



**Figure 16** : Corrélation entre manifestations cliniques et production des anticorps conventionnels (Groupe I).

- Anti-B2glyI
- Anti-cardiolipine
- Association acl/B2glyI

### **III-3-1-1. Corrélation suivant l'isotype (IgG/IgM) entre manifestations cliniques et production des anticorps conventionnels (Groupe I)**

L'analyse des résultats selon l'isotype des aPL conventionnels qu'ils soient IgG et/ou IgM et leur association aux manifestations cliniques (Tableau 3) montre que :

**Tableau 3 : corrélation entre manifestations cliniques et isotypes IgG/IgM des aPL conventionnels.**

| Manifestation Clinique   | Anti- $\beta$ 2GPI (+) (%) |     |         | aCL (+) (%) |     |         | Anti- $\beta$ 2GPI et aCL (+) (%) |     |         |
|--------------------------|----------------------------|-----|---------|-------------|-----|---------|-----------------------------------|-----|---------|
|                          | IgG                        | IgM | IgG+IgM | IgG         | IgM | IgG+IgM | IgG                               | IgM | IgG+IgM |
| Manif. TE                | 2                          | 14  | 2       | 2           | 10  | 0       | 2                                 | 2   | 2       |
| Compli. Obst             | 2                          | 0   | 4       | 2           | 4   | 0       | 0                                 | 4   | 4       |
| Manif. TE + Compli. Obst | 0                          | 2   | 0       | 0           | 0   | 0       | 0                                 | 2   | 0       |
| Autres Manif.            | 0                          | 10  | 4       | 8           | 4   | 0       | 4                                 | 6   | 8       |

#### Manifestations Thromboemboliques

- Isotype IgG :
  - Anti- $\beta$ 2GPI seuls (+) : 2%.
  - aCL (+) : 2%.
  - Anti- $\beta$ 2GPI et aCL (+) : 2%.
- Isotype IgM :
  - Anti- $\beta$ 2GPI seuls (+) : 14%.
  - aCL (+) : 10%.
  - Anti- $\beta$ 2GPI et aCL (+) : 2%.
- IgG + IgM :
  - Anti- $\beta$ 2GPI seuls (+) : 2%.
  - aCL (+) : 0%.
  - Anti- $\beta$ 2GPI et aCL (+) : 2%.

Ainsi, l'isotype IgM des aPL conventionnels est fréquemment plus associé aux manifestations thromboemboliques.

➤ Complications obstétricales (voir tableau 3)

l'isotype IgM des aPL conventionnels est relativement plus associé aux complications obstétricales comparé à l'isotype IgG. Cependant, la même fréquence est retrouvée quand les deux isotopes sont produits.

➤ Association "Manifestations Thromboemboliques + Complications Obstétricales "  
(voir tableau 3)

l'isotype IgM des aPL conventionnels est relativement plus retrouvé quand les manifestations thromboemboliques et les complications obstétricales sont associées comparé à l'isotype IgG. Cependant, la même fréquence est retrouvée quand les deux isotypes sont produits.

➤ Autres Manifestations cliniques (voir tableau 3)

Ainsi, l'isotype IgM des aPL conventionnels est relativement plus retrouvé quand les manifestations thromboemboliques et les complications obstétricales sont associées comparé à l'isotype IgG. Cependant, la même fréquence est retrouvée quand les deux isotypes sont produits.

**III-3-2. Corrélation entre manifestations cliniques et production simultanée des anticorps conventionnels et non conventionnels (Groupe II)**

III-3-2-1. Production des aPT

En cherchant des corrélations entre la production des aPT et les manifestations cliniques, on a pris 50 patients aPT (+) et on les a comparé à 50 autres patients qui sont aPT (-) (Tableau 4). Les résultats obtenus montrent que la production des aPT est corrélée :

- Fortement aux manifestations neurologiques, en particulier, l'AVC (p = 0,002 ; OR = 8,43).
- Moyennement, aux autres manifestations (p = 0,01 ; OR = 0,34).
- Relativement, moins corrélée aux manifestations thromboemboliques (p = 0,02 ; OR = 0.33).

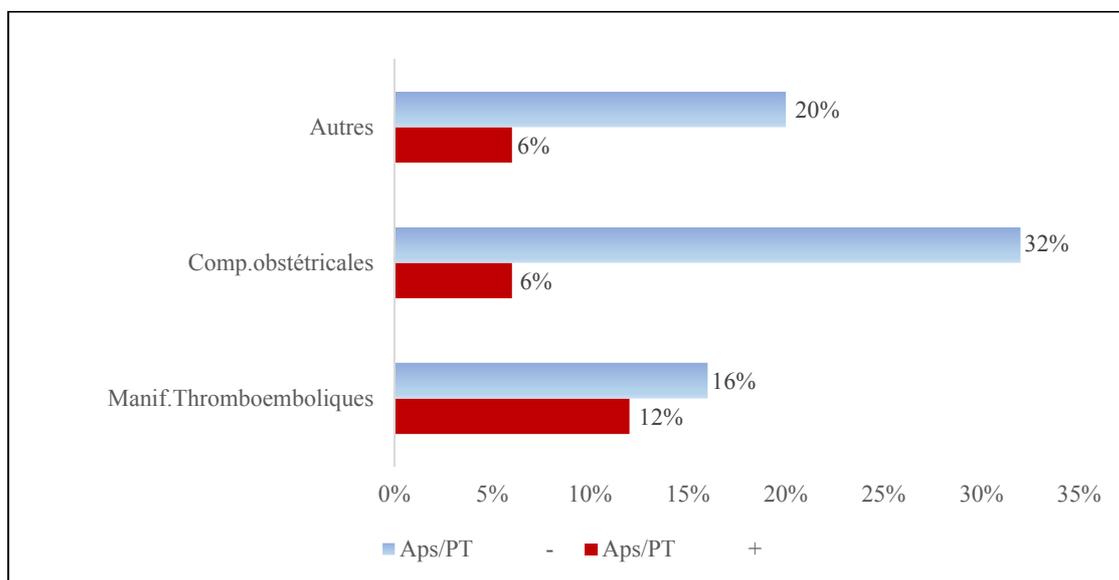
**Tableau 4 : Corrélation entre manifestations cliniques et la production des aPT**

| Manifestations Cliniques     |     | aPT (n = 100) |     | p     | OR   | IC95%       |
|------------------------------|-----|---------------|-----|-------|------|-------------|
|                              |     | (+)           | (-) |       |      |             |
| Manif. TE                    | (+) | 8             | 18  | 0,02  | 0,33 | 0,13 - 0,87 |
|                              | (-) | 42            | 32  |       |      |             |
| Compli. Obst                 | (+) | 17            | 10  | 0,12  | 2    | 0,80 - 0,40 |
|                              | (-) | 33            | 39  |       |      |             |
| Troubles Neurologiques (AVC) | (+) | 13            | 2   | 0,002 | 8,43 | 1,7 - 39,71 |
|                              | (-) | 31            | 48  |       |      |             |
| Autres Manif.                | (+) | 10            | 21  | 0,01  | 0,34 | 0,14 - 0,84 |
|                              | (-) | 40            | 29  |       |      |             |

### III-3-2-2. Production des anticorps anti-complexe "PS/PT"

En cherchant des corrélations entre la production des aPS/PT et les manifestations cliniques, on a pris 50 patients (sous-groupe I,II) avec prévalence en complexe aPS/PT (+), et on les a comparé aux autres patients qui sont aPS/PT (-). Les résultats obtenus montrent que la production des aPS/PT est corrélée

- Fortement aux manifestations thromboemboliques ( $p = 0,006$  ; OR = 8,16), 12 % par rapport à 16 % (aPS/PT -)
- Quant aux manifestations obstétricales et autres, aucune association n'a été montrée 6% /32 % (aPS/PT -), 6%/20% (aPS/PT) respectivement. ( $p$  :NS)

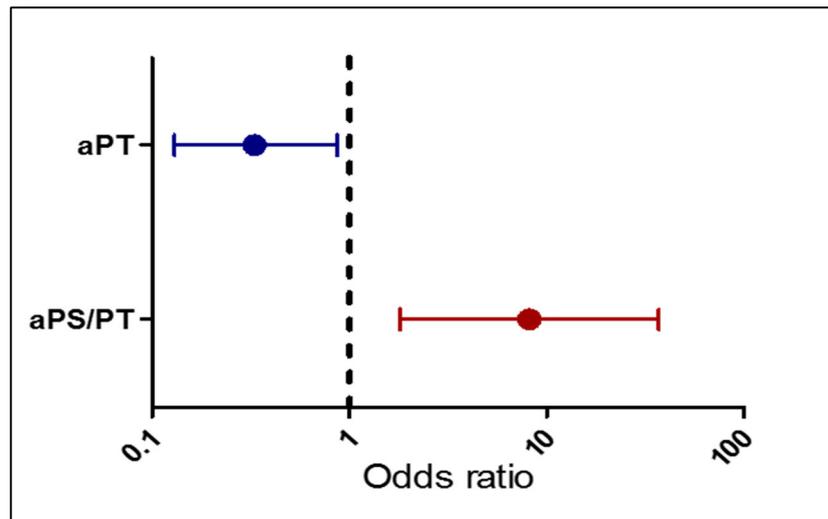


**Figure 17 : Corrélation entre manifestations cliniques et la production des aPS/PT.**

### III-3-2-3 Comparaison entre association des aPT, de complexe aPS/PT avec le risque de thromboses

En comparant le risque de développer des maladies thromboemboliques chez les patients aPT (+) à celui des patients aPS/PT (+), se dégage un plus grand risque thrombogène associé aux aPS/PT :

- aPS/PT (+) :  $p = 6 \times 10^{-3}$  ; OR = 8,16.
- aPT (+) :  $p = 2 \times 10^{-2}$  ; OR = 0,33.

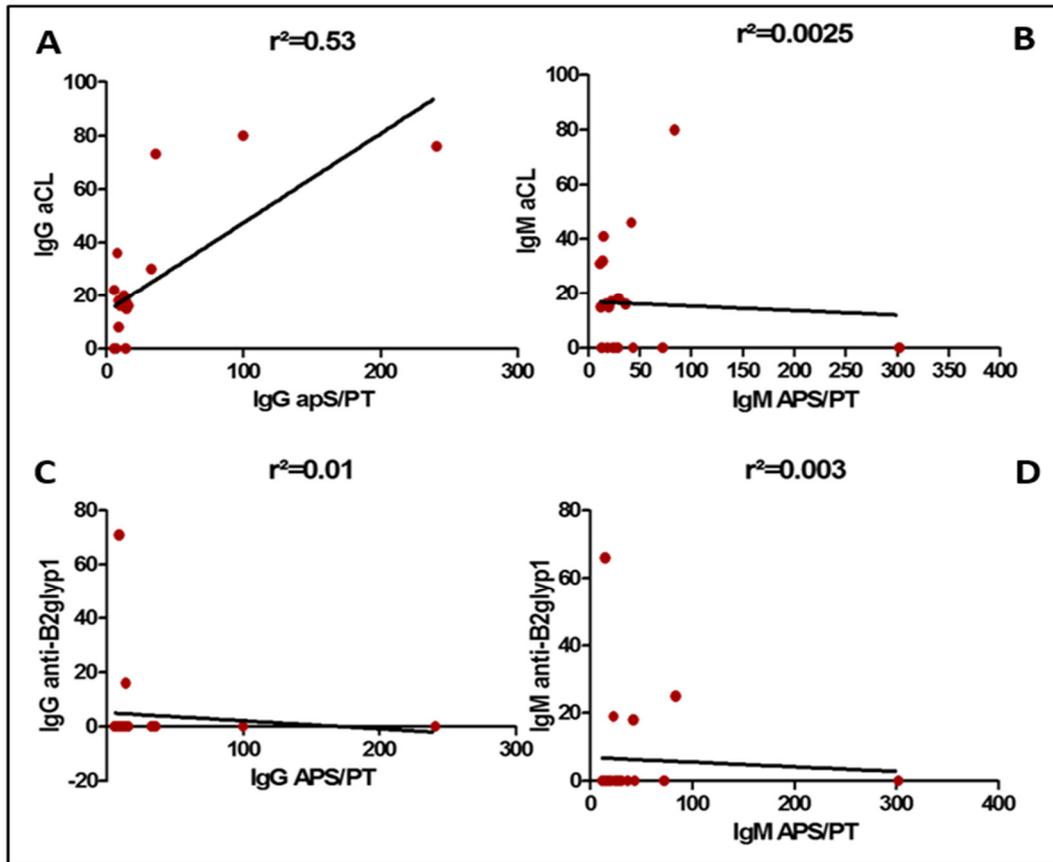


**Figure 18 : comparaison des aPS/PT et aPT et leur association avec le risque de thromboses**

### III-3-2-4. Corrélation entre production des aPS/PT et aPL conventionnels

En essayant de démontrer l'existence d'une association entre la production des aPS/PT et celle des aPL conventionnels s'est dégagée une corrélation entre la production des aPS/PT d'isotype IgG et celle des aCL du même isotype (Figure 19) :

- aPS/PT (+) – aCL (+) :
  - IgG :  $p = 3 \times 10^{-4}$  ;
  - IgM :  $p = \text{NS}$ .
- aPS/PT (+) – anti- $\beta$ 2GPI (+) :
  - IgG :  $p = \text{NS}$
  - IgM :  $p = \text{NS}$ .



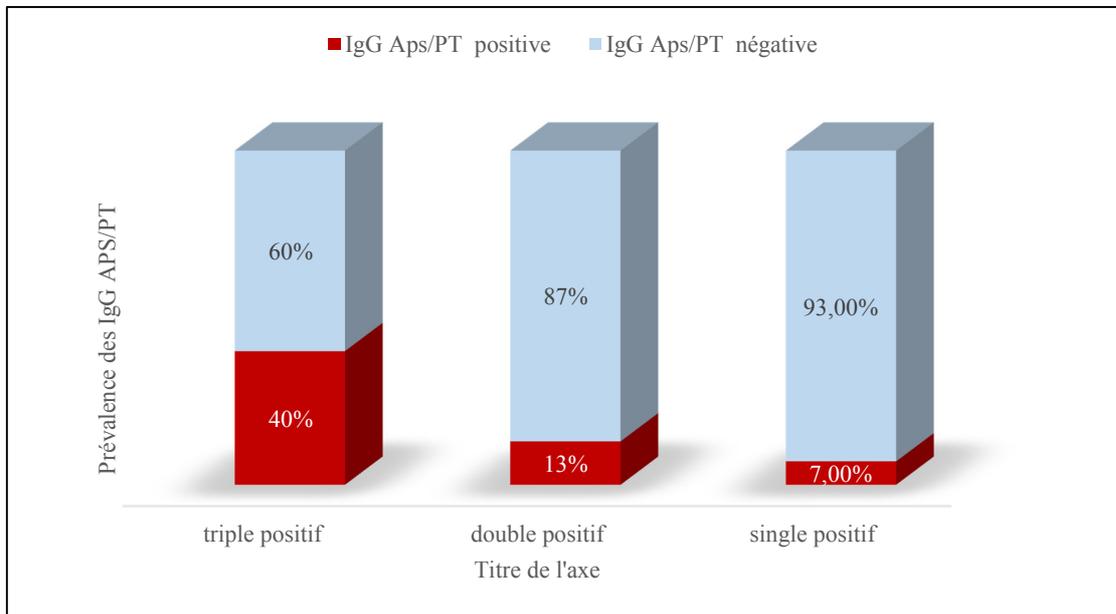
**Figure 19 : Corrélation entre production des aPS/PT et aPL conventionnels**

[A. IgG aPS/PT vs. IgG aCL ( $p = 3 \times 10^{-4}$ ). B. IgM aPS/PT vs. IgM aCL ( $p = \text{NS}$ ). C. IgG aPS/PT vs. IgG anti- $\beta$ 2GPI ( $p = \text{NS}$ ). D. IgM aPS/PT vs. IgM anti- $\beta$ 2GPI ( $p = \text{NS}$ )].

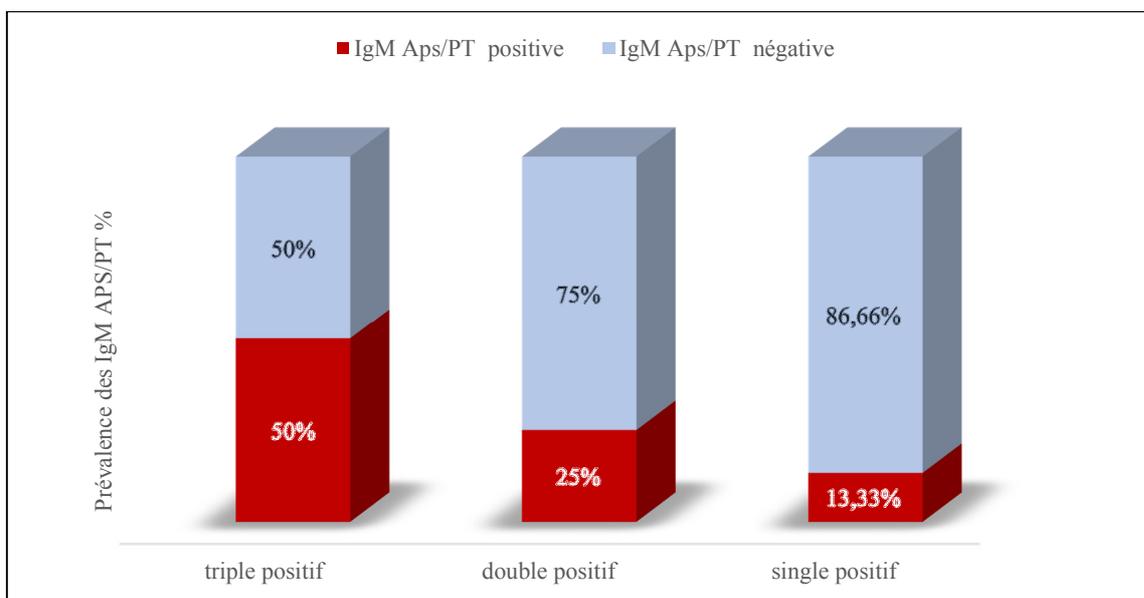
### III-3-2-5. Profil de production des aPS/PT et aPL conventionnels

Nous avons essayé de comparer la production des aPS/PT (IgG/IgM) et celle des aPL conventionnels (IgG/IgM) selon que :

- Trois anticorps soient produits : Triple Positivité [3(+)]
  - aPS/PT (+)
  - aCL (+)
  - anti- $\beta$ 2GPI (+)
- Deux anticorps soient produits : Double Positivité [2(+)]
  - aPS/PT (+)
  - aCL (+) ou anti- $\beta$ 2GPI (+)
- Un anticorps soit produit, en l'occurrence, aPS/PT : Mono-Positivité [1(+)]
  - aPS/PT (+)
  - aCL (-)
  - anti- $\beta$ 2GPI (-)



**Figure 20 :** Association entre IgG aPS/PT et les anticorps conventionnels et non



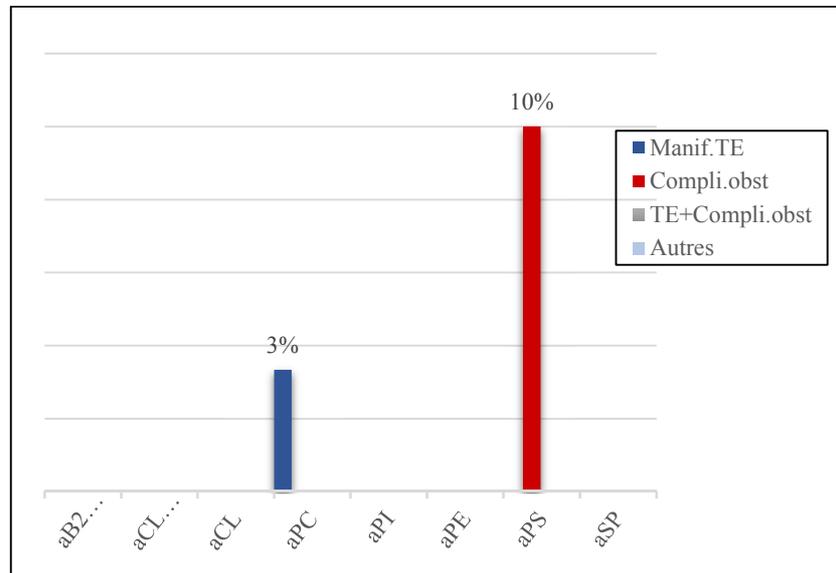
**Figure 21 :** Association entre IgM aPS/PT et les anticorps conventionnels et non

Quand on compare, selon l'isotype, le profil en anticorps 3(+) aux autres [2(+) et 1(+)], il s'avère que les IgG et IgM aPS/PT soient significativement le plus associés au profil 3(+) :

- IgG :  $p = 1 \times 10^{-4}$  ; OR = 4,46 ; IC 95% = 2,25 – 9,04 (Figure 20).
- IgM :  $p = 3 \times 10^{-4}$  ; OR = 3,95 ; IC 95% = 1,64 – 5,54 (Figure 21).

### III-3-3.Corrélation entre manifestations cliniques et la non production d'aPL conventionnels (patients séronégatifs) (Groupe III)

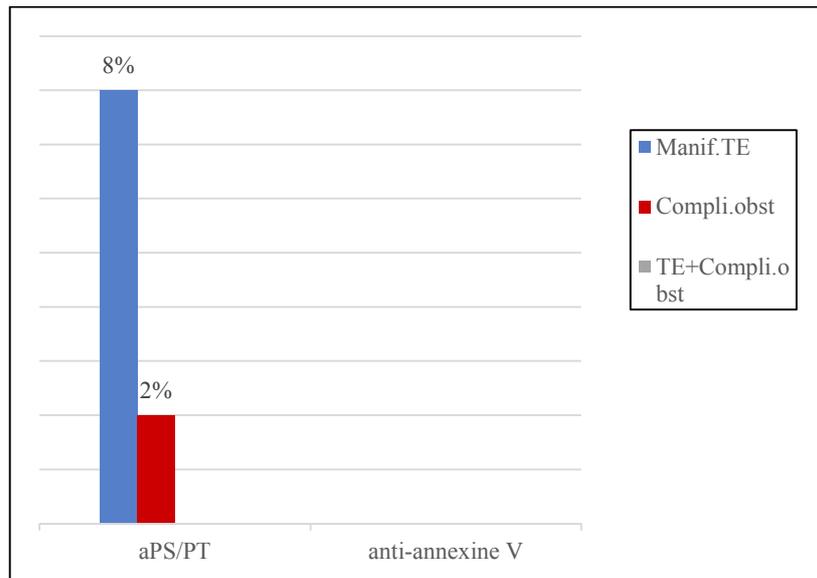
#### IV-3-3-1. Corrélacion entre manifestations cliniques et les autres spécificités aPL : aPE, aPC, aPS, aPI et aSP



**Figure 22 : Corrélacion entre manifestations cliniques et les autres spécificités aPL : aPE, aPC, aPS, aPI et aSP.**

La recherche, en cas de séronégativité des aPL conventionnels, d'autres cibles antigéniques des aPL telles que les anti- : Phosphatidyl Choline (aPC), Phosphatidyl Ethanolamine (aPE), Phosphatidyl Sérine (aPS), Phosphatidyl Inositol (aPI) et les anti-Shingomyéline (aSP) montre que :

- Les aPS sont associés aux complications obstétricales dans 10% des cas.
- Les aPC sont, quant à eux, associés aux manifestations thromboemboliques dans 3% des cas (Figure 22).

**III-3-3-2. Corrélation entre manifestations cliniques et aPS/PT et anti-Annexine 5**

**Figure 23** : Corrélation entre manifestations cliniques et les aPS/PT et anti-Annexine 5 en cas de séronégativité des aPL conventionnels.

La recherche, en cas de séronégativité des aPL conventionnels, des aPS/PT et anti-Annexine 5 montre que les aPS/PT sont associés aux :

- Manifestations thromboemboliques dans 8% des cas.
- Complications obstétricales dans 2% des cas.

Quant aux anti-Annexine V, dans notre série, ne sont associés à aucune manifestation clinique (Figure 23).

## Chapitre IV : Discussion

## **V. DISCUSSION**

Ce travail a permis d'établir des corrélations entre les manifestations cliniques d'un SAPL et le profil en antiphospholipides conventionnels et non conventionnels.

Les patients étaient pour la plupart de sexe féminin avec 87% de femmes vs 23% d'hommes soit un sex-ratio de 1/6 (1♂/6♀). De telles données sont comparables à celles publiées par l'équipe de Magy et al en 2002, à l'issue d'une étude rétrospective, avec 62% de femmes vs 38% d'hommes (*Magy et al., 2002*), ou encore avec 71% de femmes vs 29% d'hommes (*Pengo et al., 2010*).

La moyenne d'âge était de 38 (±12) ans, elle est comparable à celle publiée en 2009, sous l'intitulé "Euro-Phospholipides Project" avec une moyenne d'âge au diagnostic de 35 (±13) ans (*Cervera et al., 2009*).

### **V-1. Répartition des patients selon les manifestations cliniques**

Notre population se caractérise, en grande partie, par des événements cliniques subdivisés, selon les critères du diagnostic du SAPL de Sydney 2006, en manifestations thromboemboliques (41,2%), complications obstétricales (31,2%), association de "manifestations thromboemboliques + complications obstétricales" (2,4%) et (25%) des autres manifestations non incluses dans les critères de Sydney 2006, représentées par les syndromes hémorragiques, les uvéites, la thrombopénie auto-immune, les connectivites, etc. Des résultats similaires ont été observés dans une population de 160 patients atteints d'un SAPL chez lesquels les manifestations thromboemboliques étaient présentes dans 55% des cas et les complications obstétricales dans 32% des cas, alors que les deux types de manifestations étaient présents dans 12% des cas (*Hoxha et al., 2015*). Quant aux autres manifestations, on peut suggérer que leur apparence est peut être due à la suspicion de la maladie chez notre population.

### **V-2. Corrélation entre manifestations cliniques et production des anticorps conventionnels (Groupe I)**

L'analyse du profil en aPL conventionnels, des deux isotypes IgG et IgM, et leur corrélation aux manifestations cliniques révèle que les IgM anti-β2GPI sont associées aux manifestations thromboemboliques dans 14% des cas alors que les IgG ne sont produites que dans 2% des cas de thromboses. Ces résultats sont comparable aux résultats de l'équipe de Tincani *et al.*, (2010) qui ont trouvé une association des anti-β2GPI d'isotype IgM (23%) aux thromboses. Cependant d'autres travaux ont montré une association des anti-β2GPI d'isotype IgG aux thromboses (20%)(*Galli et al., 2003*). L'analyse du même profil, montre que les aCL IgM sont associés aux manifestations thromboemboliques avec 10% des cas. En outre, ces anticorps sont associés aux complications obstétricales avec 4% des cas. Des études antérieures montrent que les complications obstétricales sont aussi associées aux anti-β2GPI IgM (12%)(*Tincani et al., 2010*) ,ces résultats peuvent expliquer une prévalence d'isotype IgM des anticorps conventionnels.

Concernant les autres manifestations cliniques non citées dans les critères de Sydney 2006, (les syndromes hémorragiques, les uvéites, la thrombopénie auto-immune, les connectivites,...). nous avons trouvé que 10% sont associées aux IgM anti-β2G , 4% sont

associées aux IgG + IgM, 8% sont associées aux IgG anticardiolipines, 4% sont associés aux IgM, 8% sont associées aux anticorps IgG + IgM des anti-B2glycoprotéines plus les anticorps anticardiolipines, 6% sont associées aux IgM des anti-B2glycoprotéines plus les anticorps anticardiolipines, et 4% sont associées aux IgG des anti-B2glycoprotéines plus les anticorps anticardiolipines (Tableau 3). A notre connaissance très peu d'études ont été menées sur ces corrélations.

### **V-3. Corrélation entre manifestations cliniques et production simultanée des anticorps conventionnels et non conventionnels (Groupe II)**

#### Production des aPT

L'étude statistique entre la production des aPT et les manifestations cliniques chez 100 patients [50 aPT(+) et 50 aPT(-)] a montré une forte corrélation entre la production des aPT et les manifestations neurologiques, en particulier, l'AVC ( $p = 0,002$  ; OR = 8,43). Ces résultats sont semblables aux résultats obtenus dans la littérature (Cojocaru *et al.*, 2008) où une très forte corrélation des aPT aux AVC est noté. ( $p < 0,0001$  ; OR = 26,65). Néanmoins, une corrélation relativement moins, est observée ( $p = 0,01$  ; OR = 0,34) avec les autres manifestations non incluses dans les critères de Sydney 2006 et avec manifestations thromboemboliques ( $p = 0,02$  ; OR = 0,33) par rapport aux AVC. Ces résultats sont similaires aux résultats obtenus par l'équipe de Galli *et al* qui ont trouvés une association des aPT aux thromboses veineuses et artérielles avec absence d'association des antiprothrombines aux complications obstétricales. (Galli *et al.*, 2007; Galli *et al.*, 2003). Ceci peut expliquer en grande partie que les aPT représentaient un grand facteur de risque dans les AVC que dans les autres manifestations.

#### Production des anticorps anti-complexe "PS/PT"

La comparaison entre la production des aPS/PT et les manifestations cliniques a montré une forte association entre ces aPS/PT aux maladies thromboemboliques chez 12% des cas ( $p = 6 \times 10^{-3}$  ; OR = 8,16). Tandis que les autres manifestations ne montraient aucune association. Ces résultats sont comparables aux travaux faites par (Hoxha *et al.*, 2012; Nojima *et al.*, 2006; Vlaga *et al.*, 2013). le complexe aPS/PT semble représenter un grand facteur de risque dans les manifestations thrombotiques .

#### Comparaison du risque thrombogène associé aux aPT et à l'anti complexe PS/PT

Nous avons comparé le risque de développer des maladies thromboemboliques chez les patients aPT (+) à celui des patients aPS/PT (+) et nous avons noté un plus grand risque thrombogène associé aux aPS/PT ( $p = 6 \times 10^{-3}$  ; OR = 8,16) par rapport au aPT (+) ( $p = 2 \times 10^{-2}$  ; OR = 0,33). Ces résultats sont en accord avec l'étude réalisé par Sciascia *et al*, qui montraient que les aPS/PT étaient comme un grand facteur de risque dans une population de 1000patients (Sciascia *et al.*, 2014).

#### Corrélation entre production des aPS/PT et aPL conventionnels

L'étude de la corrélation entre la production des aPS/PT et celle des aPL conventionnels, a montré l'existence d'une corrélation entre la production des aPS/PT d'isotype IgG et celle des aCL du même isotype ( $p = 3 \times 10^{-4}$  ;  $r^2 = 0,56$ ). Nos résultats sont semblables à celles obtenus par des travaux publiés, qui ont trouvé une corrélation entre les aPS/PT d'isotype IgG et celle

des aCL (Hoxha *et al.*, 2015; Pengo *et al.*, 2010) on suggère que cette corrélation peut renforcer d'avantage l'association des anticorps conventionnels avec les anticorps non conventionnels. de plus, les mêmes auteurs ont signalé une corrélation entre les aPS/PT d'isotype IgG avec les anti- $\beta$ 2GPI du même isotype. en revanche nous n'avons pas trouvé cette dernière corrélation, qui pourrait s'expliquer par le faible effectif (n = 20) utilisé dans cette analyse par rapport à l'autre étude (Hoxha *et al.*, 2015) avec 150 patients. Suite à un manque de réactifs et de patients.

#### Profil de production des aPS/PT avec des aPL conventionnels et non conventionnels

La comparaison de la production des aPS/PT (IgG/IgM) à celle des aPL conventionnels ou non, (acl, anti-B2glyI, apt) d'isotype (IgG/IgM) a montré dans le profil des cas de positivité (triple, double et unipositifs).

La Triple (acl+, anti-B2glyI+, aPT +), La Double (acl+, anti-B2glyI+)

L'uni (apt+ ou acl + ou anti-B2glyI+)

Que les aPS/PT des deux isotypes IgG et IgM sont plus étroitement associés et fréquents à la triple positivité en aPL (acl+, anti-B2glyI+, aPT +)

Pour les aPS/PT d'isotypes IgG ( $p = 1 \times 10^{-4}$  ; OR = 4,46) et les aPS/PT d'isotypes IgM ( $p = 3 \times 10^{-4}$  ; OR = 3,95). Ces résultats rejoignent ceux de Hoxha *et al.* (Hoxha *et al.*, 2015). qui peuvent être expliqués par leur association avec le risque élevé des profils aPL conventionnels renforce d'avantage la valeur clinique des anticorps aPS / PT.

#### **V-4. Etude de la prévalence des anticorps non conventionnels chez des patients séronégatifs présentant des manifestations cliniques du SAPL (Groupe III)**

Suite à la séronégativité des patients, nous avons tenté de chercher la présence des anticorps non conventionnels analysés dans ce travail.

#### Les manifestations cliniques et les antiphospholipides non conventionnels

La recherche des anticorps non conventionnels (les anti- Phosphatidyl Choline (aPC), Phosphatidyl Ethanolamine (aPE), Phosphatidyl Sérine (aPS), Phosphatidyl Inositol (aPI) et les anti-Shingomyéline (aSP) chez 30 patients a montré uniquement que les aPS et aPC sont associés à des manifestations cliniques. les aPS sont associés avec des complications obstétricales dans 10% des cas. ces résultats sont comparables à l'étude de Branch *et al.*, (1997). Par contre l'anticorps antiphosphatidyl cholin, s'associait aux manifestations thromboemboliques chez 3% des cas. A notre connaissance aucune étude n'a signalé des résultats semblables.

La recherche des anticorps non conventionnels aPS/PT et anti-Annexine 5 chez 50 patients a montré que les aPS/PT étaient associés aux manifestations thromboemboliques chez 8% des cas, ceci pourrait expliquer l'intérêt diagnostique du complexe de plus son association aux thromboses chez une population séropositive en anticorps conventionnels, mais aussi il s'est montré également associé aux thromboses chez la population séronégative. Le aPS/PT est associé aux complications obstétricales chez 2% des cas. L'association des aPS/PT avec les manifestations thromboemboliques a été signalée dans les travaux de Nojima *et al.*, Hoxha *et al.* et Vlaga *et al.* Tandis que les anti-Annexine 5 n'étaient associés à aucune des manifestations cliniques, ce qui concorde avec l'étude de Conti *et al.* 2014 sur 24 patients avec des manifestations cliniques du SAPL et des aPL conventionnels séronégatifs.

# Conclusion

Le syndrome des antiphospholipides est un concept en évolution, il est caractérisé par son hétérogénéité aussi bien sur le plan clinique que biologique. Dans notre étude nous avons montré l'existence d'une corrélation entre des manifestations cliniques et le profil des auto-anticorps conventionnels et non conventionnels chez notre population de 170 patients ayant des signes évocateurs d'un SAPL.

Une forte corrélation est notée entre les thromboses et deux types d'anticorps antiphospholipides conventionnels ; les anti-B2glyI et les aCL d'isotype IgM. Aussi une forte association est observée entre les manifestations neurologiques et la production des anticorps non conventionnels (aPT) et une corrélation relativement moins entre les thromboses et ces aPT.

Dans ce même contexte nous avons comparé le risque du développement de maladies thromboemboliques chez les patients aPT (+) à celui des patients aPS/PT (+) et nous avons remarqué un plus grand risque thrombogène associé aux aPS/PT.

Nous nous sommes intéressés à démontrer l'existence d'une association entre la production des aPS/PT et celle des aPL conventionnels, nous avons noté une corrélation entre la production des aPS/PT d'isotype IgG et celle des aCL du même isotype. Dans le même prétexte nous avons essayé de comparer la production des aPS/PT (IgG/IgM) et celle des aPL conventionnels et non conventionnels (IgG/IgM) selon un profil de triple positivité (aCL, anti-B2glyI et aPT) de double positivité et mono positivité, en l'occurrence les aPS/PT, des deux isotypes IgG et IgM. Montraient une grande fréquence dans le profil de triple positivité par rapport au double et mono positivité en (aCL, anti-B2glyI et aPT).

Dans le cas d'une séronégativité nous avons recherché, des aPL non conventionnels ; des aPS/PT, anti-Annexine 5, (aPC), (aPE), (aPS (aPI) et les (aSP) et nous avons obtenu que les aPS/PT étaient plus corrélés aux manifestations thromboemboliques et aux complications obstétricales. cependant les aPS étaient seulement associés aux complications obstétricales.

Notre travail, a montré clairement l'existence d'une corrélation entre les manifestations cliniques et les anticorps non conventionnels. Ainsi il serait intéressant de bien étudier les cibles antigéniques des antiphospholipides, afin d'améliorer la stratégie de détection de ces anticorps et de développer de nouvelles approches techniques, pour mieux diagnostiquer la maladie et réviser les critères de classification du SAPL.

## Annexes :

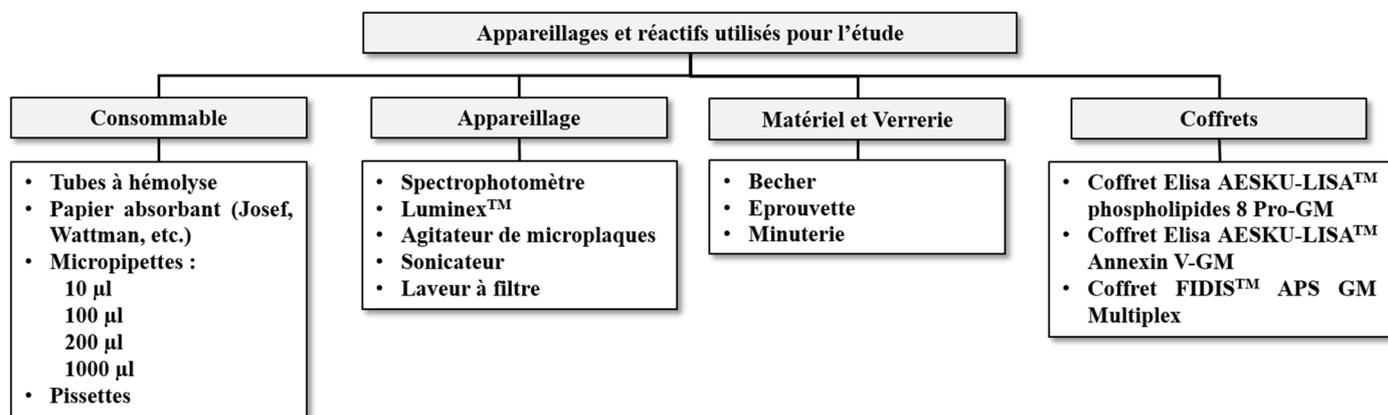
### Annexes (A)

**Tableau 1 : critères de Sapporo 1991**

| Critères de SAPPORO 1999   |   |
|--|---|
| Critères Cliniques   | Critères Biologiques  |
| <p><b>Thromboses vasculaires :</b><br/>Un ou plusieurs épisodes cliniques de thrombose artérielle, veineuse ou des petits vaisseaux dans n'importe quel tissu ou Organe.</p> <p><b>Complications obstétricales :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Une ou plusieurs morts inexplicables de fœtus morphologiquement normaux</li> <li>○ Une ou plusieurs naissances prématurées suite à une pré-éclampsie sévère, une éclampsie ou une insuffisance placentaire.</li> <li>○ Trois avortements spontanés ou plus, inexplicables</li> </ul> | <p><b>Anticorps anti-cardiolipine (aCL) :</b><br/>IgG et/ou IgM à des taux moyens ou forts.</p> <p><b>Lupus anticoagulant (ACC anti-prothrombinase) :</b><br/>Déteecté selon les recommandations de l'ISTH (International society of thrombosis and haemostasis).</p> <p>Selon les critères de Sapporo, la présence d'un titre positif doit être reconfirmée après six semaines au moins, pour exclure des anticorps non thrombogènes et transitoires, souvent associés aux infections virales.</p> |

### Annexes (B)

**Tableau II : Appareillages et réactifs utilisés pour l'étude.**



**Tableau III : Nature des antigènes utilisés dans le coffret FIDIS™ APS GM.**

| Antigènes                 | Nature de l'antigène    |
|---------------------------|-------------------------|
| Cardiolipine              | Recombinante            |
| B2 glycoprotéine I        | Purifiée humaine 50 kDa |
| Prothrombine (Facteur II) | Purifiée humaine 72kDa  |

**Tableau IV : Coffrets ELISA utilisés.**

|   |                         |   |
|---|-------------------------|---|
| <b>Coffret<br/>AESKULISA™<br/>8Pro-GM</b> | <b>Control négatif</b>  | 2 Flacons de 1,8ml                            |
|   | <b>Cut-off</b>          | 8 Flacons de 1,5 ml d'antigènes spécifiques   |
|   | <b>Conjugué</b>         | 1 Flacon de 15ml IgG<br>1 Flacon de 15 ml IgM |
|   | <b>Substrat TMB</b>     | 1 Flacon de 15ml                              |
|   | <b>Solution d'arrêt</b> | 1 Flacon de 15ml                              |
|   | <b>Microplaque</b>      | 12 Barrettes de 8 micropuits                  |

|  |                         |                              |
|--|-------------------------|------------------------------|
| <b>Coffret<br/>AESKULISA™<br/>Annexin-V GM</b> | <b>Control négatif</b>  | 1 Flacon de 1,5 ml           |
|  | <b>Control positif</b>  | 1 Flacon de 1,5 ml           |
|  | <b>Cut-off</b>          | 1 Flacon de 1,5 ml           |
|  | <b>Calibrateurs</b>     | 6 Flacon de 1,5 ml           |
|  | <b>Conjugué</b>         | 1 Flacon de 15 ml            |
|  | <b>Substrat TMB</b>     | 1 Flacon de 15 ml            |
|  | <b>Solution d'arrêt</b> | 1 Flacon de 15 ml            |
|  | <b>Microplaque</b>      | 12 Barrettes de 8 micropuits |

## Références bibliographiques

- Agar, C. , van Os, G.M., Mörgelin, M., Sprenger, R.R., Marquart, J.A.,et Urbanus, R.T. (2010). Beta 2-glycoprotein I can exist in two conformations: implications for our understanding of the antiphospholipid syndrome. *Blood*, 116, 1336-1343.
- Amengual, O., Atsumi, T.,etKoike, T. (2003). Specificities, properties, and clinical significance of antiprothrombin antibodies. *Arthritis Rheum*, 48(4), 886-895. doi: 10.1002/art.10831
- Andree, H.A. , Stuart, M.C., Hermens, W.T. , Reutelingsperge, C.P.,et Hemker, H.C. (1992). Clustering of lipid-bound annexin V may explain its anticoagulant effect. *J Biol Chem*, 267, 17907-17912.
- Arnout, J.,et Vermylen, J. (2003). Current status and implications of autoimmune antiphospholipid antibodies in relation to thrombotic disease. *J Thromb Haemost*, 1(5), 931-942.
- Bajaj, S. P., Rapaport, S. I., Fierer, D. S., Herbst, K. D.,et Schwartz, D. B. (1983). A mechanism for the hypoprothrombinemia of the acquired hypoprothrombinemia-lupus anticoagulant syndrome. *Blood*, 61(4), 684-692.
- Berman, J., Girardi, G. ,et Salmon, J.E. . (2005). TNF-alpha is a critical effector and a target for therapy in antiphospholipid antibody-induced pregnancy loss. *J Immunol* 174, 485-490
- Biggioggero, M.,etMeroni, P, L. . (2010). The geoepidemiology of the antiphospholipid antibody syndrome. / *Autoimmunity Reviews*, 9 A299-A304.
- Cabral, A.R.,et Segovia, A.D. (1996). Bromelain-treated erythrocytes autoantibodies. Autoantibodies. *Amsterdam: Elsevier*, 120-125.
- Cariou, R., Tobelem, G., Bellucci, S., Soria, J., Soria, C., Maclouf, J.,et Caen, J. (1988). Effect of lupus anticoagulant on antithrombogenic properties of endothelial cells--inhibition of thrombomodulin-dependent protein C activation. *Thromb Haemost*, 60(1), 54-58.
- Cervera, R., Boffa, M. C., Khamashta, M. A.,et Hughes, G. R. (2009). The Euro-Phospholipid project: epidemiology of the antiphospholipid syndrome in Europe. *Lupus*, 18(10), 889-893.
- Chalumeau, C. N. , Arnaud, L., Saadoun, D. , Chastre, J., Leroux, G., Cacoub, P.,etAmoura, Z. (2012). Catastrophic antiphospholipid syndrome. *Rev.Médecine Interne Fondée Par Société Natl. Francaise Médecine Interne*, 33, 194-199.
- Cojocar, I. M., Cojocar, M., Tanasescu, R., Burcin, C., Mitu, A. C., Iliescu, I., . . . Silosi, I. (2008). Detecting anti-prothrombin antibodies in young women with acute ischemic stroke. *Rom J Intern Med*, 46(4), 337-341.

- Comarmond, C., et Cacoub, P. (2013). Antiphospholipid syndrome: from pathogenesis to novel immunomodulatory therapies. *Autoimmun Rev*, 12(7), 752-757. doi: 10.1016/j.autrev.2012.12.006
- de Laat, B., Mertens, K., et de Groot, P. G. (2008). Mechanisms of disease: antiphospholipid antibodies-from clinical association to pathologic mechanism. *Nat Clin Pract Rheumatol*, 4(4), 192-199. doi: 10.1038/ncprheum0740
- Deguchi, H., Fernandez, J.A., Hackeng, T.A., Banka, C.L., et Griffin, H. (2000). Cardiolipin is a normal component of human plasma lipoproteins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 97, 1743-1748.
- DeLaat , B, Wu, XX, Van , Lummel M, Derksen, RH, DeGroot, PG, et Rand, JH. (2007). Correlation between antiphospholipid antibodies that recognize domain I of beta 2-glycoprotein I and a reduction in the anticoagulant activity of annexin A5. *Blood*, 109, 1490-1494.
- Ellouze, R., et Guermazi, S. (2011). Le syndrome des anti-phospholipides. *Revue Francophone des Laboratoires (436)* 83-88.
- Galli, M., Borrelli, G., Jacobsen, E. M., Marfisi, R. M., Finazzi, G., Marchioli, R., . . . T., Barbui. (2007). Clinical significance of different antiphospholipid antibodies in the WAPS (warfarin in the antiphospholipid syndrome) *BLOOD*, 110.
- Galli, M., Luciani, D., Bertolini, G., et Barbui, T. (2003). Anti-2-glycoprotein I, antiprothrombin antibodies, and the risk of thrombosis in the antiphospholipid syndrome. *BLOOD*, 102, OCTOBRE.
- Girardi, G., Berman, J., Redecha, P., Spruce, L., Thurman, J. M., Kraus, D., . . . Salmon, J. E. (2003). Complement C5a receptors and neutrophils mediate fetal injury in the antiphospholipid syndrome. *J Clin Invest*, 112(11), 1644-1654. doi: 10.1172/JCI18817
- Girardi, G., Yarin, D., Thurman, J. M., Holers, V. M., et Salmon, J. E. (2006). Complement activation induces dysregulation of angiogenic factors and causes fetal rejection and growth restriction. *J Exp Med*, 203(9), 2165-2175. doi: 10.1084/jem.20061022
- Hachuella, E., Darnige , L., et Arvieux, J. (2007). syndrome des antiphospholipides *EMC-hemathologie*, 2, 1-18.
- Harris, E. N., Gharavi, A. E., Boey, M. L., Patel, B. M., Mackworth-Young, C. G., Loizou, S., et Hughes, G. R. (1983). Anticardiolipin antibodies: detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus erythematosus. *Lancet*, 2(8361), 1211-1214.
- Holers, V.M., Girardi, G., Mo, L., Guthridge, J.M., Molina, H., et Pierangeli, S.S. (2002). Complement C3 activation is required for antiphospholipid antibody-induced fetal loss. *J Exp Med*, 195, 211-220.
- Hoxha, A., Ruffatti, A., Mattia, E., Meneghel, L., Tonello, M., Salvan, E., . . . Punzi, L. (2015). Relationship between antiphosphatidylserine/prothrombin and conventional

antiphospholipid antibodies in primary antiphospholipid syndrome. *Clin Chem Lab Med*, 53(8), 1265-1270. doi: 10.1515/cclm-2014-1129

- Hoxha, A., Ruffatti, A., et Tonello, M. (2012). Antiphosphatidylserine/prothrombin antibodies in primary antiphospholipid syndrome. *Lupus*, 21, 787-789.
- Kassis, J. (2006). Les anticorps antiphospholipides. *Annales de biologie clinique*, 43(2), 21-23.
- Lellouche, F, Martinuzzo, M, Said, P, Maclouf, J, Carreras, LO. (1991). Imbalance of thromboxane/prostacyclin biosynthesis in patients with lupus anticoagulant. *Blood*, 78 2894-2899.
- Levy, R. A., de Meis, E., et Pierangeli, S. (2004). An adapted ELISA method for differentiating pathogenic from nonpathogenic aPL by a beta 2 glycoprotein I dependency anticardiolipin assay. *Thromb Res*, 114(5-6), 573-577.
- Magy, N., Gil, H., Racadot, E., et Dupond, J. L. (2002). [Relative value of different antiphospholipid antibodies detected in a department of internal medicine: retrospective study of 124 patients]. *Rev Med Interne*, 23(8), 696-702.
- Manon, D., Zuily, S., Champigneulle, J., Eschwège, V., Frimat, L., Perret-Guillaume, C., et Wahl, D. (2014). Le syndrome des antiphospholipides en néphrologie. Atteinte rénale et aspects pratiques de la prise en charge. *Néphrologie & Thérapeutique*, 10, 19.
- Masliyah, P.J., et Darnige, L. (2012). Anticorps antiphospholipides et hémostase. *La Revue de médecine interne*, 33, 181-188.
- Matsuura, E., garashi, Y., et Fujimoto, M. (1992). Heterogeneity of anticardiolipine antibodies defined by the anticardiolipin cofactor. *J Immunol*, 148 (12), 3885-3891.
- Maus, G.C., Brito, C.C., Barinagarrementeria, F., Villa, R., Reyes, E., Guerrero, S.J., . . . Latorre, E. G. (2011). Autoantibodies against the fibrinolytic receptor, annexin A2, in cerebral venous thrombosis. *Stroke*, 42(2), 501-503. doi: 10.1161/STROKEAHA.110.592121
- McIntyre, J. A., Wagenknecht, D. R., et Faulk, W. P. (2003). Antiphospholipid antibodies: discovery, definitions, detection and disease. *Prog Lipid Res*, 42(3), 176-237.
- Meyer, O. (2007). Physiopathogeny of the antiphospholipid syndrome and therapeutic aspects. *Revue du Rhumatisme*, 74, 751-758.
- Miyakis, S., Lockshin, M. D., Atsumi, T., Branch, D. W., Brey, R. L., Cervera, R., . . . Krilis, S. A. (2006). International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost*, 4(2), 295-306.
- Nojima, J., Iwatani, Y., et Suehisa, E. (2006). The presence of antiphosphatidylserine/prothrombin antibodies as risk factor for both arterial and venous thrombosis in patients with systemic lupus erythematosus. *the hematology journal*, 9(5), 699-702.

- Pengo, V., Ruffatti, A., Legnani, C., Gresele, P., Barcellona, D., Erba, N., . . . Iliceto, S. (2010). Clinical course of high-risk patients diagnosed with antiphospholipid syndrome. *J Thromb Haemost*, 8(2), 237-242
- Pennings, M. T., Derksen, R.H., Lummel, V. M., Adelmeijer, J., VanHoorelbeke, K., Urbanus, R.T., . . . (2007). Platelet adhesion to dimeric beta-glycoprotein I under conditions of flow is mediated by at least two receptors: glycoprotein Ibalpha and apolipoprotein E receptor 2. *J Thromb Haemost*, 5, 369-377.
- Pierangeli, S.S, Stanfield, C.M., Liu, X., Barker, J.H., Anderson, G.L., et Harris, E.N. . (2002). Antiphospholipid antibodies from antiphospholipid syndrome patients activate endothelial cells in vitro and in vivo. *Circulation*, 99, 1997-1999.
- Rand, J. H., Wu, X. X., Andree, H. A., Lockwood, C. J., Guller, S., Scher, J., et Harpel, P. C. (1997). Pregnancy loss in the antiphospholipid-antibody syndrome--a possible thrombogenic mechanism. *N Engl J Med*, 337(3), 154-160. doi: 10.1056/NEJM199707173370303
- Raschi, E., Testoni, C., Bosisio, D., Borghi, M. O., Koike, T., Mantovani, A., et Meroni, P. L. (2003). Role of the MyD88 transduction signaling pathway in endothelial activation by antiphospholipid antibodies. *Blood*, 101(9), 3495-3500. doi: 10.1182/blood-2002-08-2349
- Romay, P, Z, , Montiel, M, MG, , Shilagard, T, Papalardo, E, Vargas, G, Deora, A. ( 2009). Annexin A2 is involved in antiphospholipid antibody-mediated pathogenic effects in vitro and in vivo. *Blood*, 114, 3074-3083.
- Roubey, R. A. (1996). Immunology of the antiphospholipid antibody syndrome. *Arthritis Rheum*, 39(9), 1444-1454.
- Sénant, M., Rostane, H., Fernani-Oukil, F., Hosking, F., Bellery, F., Courchinoux, A., . . . Dragon-Durey, M.A. (2015). Increased Performances of the Biological Diagnosis of the Antiphospholipid Syndrome by the Use of a Multiplex Assay. *Journal of Immunology Research*, 15, 9
- Sciascia, S., Sanna, G., Murru, V., Roccatello, D., Khamashta, M.A., et Bertolaccini, M.L. (2014). Anti-prothrombin (aPT) and anti-phosphatidylserine/prothrombin (aPS/PT) antibodies and the risk of thrombosis in the antiphospholipid syndrome. *Thrombosis and Haemostasis*, 111, 354-364
- Sanmarco, Marielle. (2011). Les autoanticorps anti-phospholipides sont devenus bien hétérogènes. *Immuno-analyse et biologie spécialisée*, 26 47-54.
- Sanmarco, Marielle. ( 2001). Exploration biologique des anticorps antiphospholipides. *GEAI info*, 4, 11-17.
- Schultze, H.E, Heide, K., Haupt, H. (1961). B2glycoproteine dans le sérum humain. *Naturwissenschaften*, 48, 719-724.
- Sorice, M, Longo, A, Capozzi, A, Garofalo, T, Misasi, R, et Alessandri, C. (2007). Antibeta 2-glycoprotein I antibodies induce monocyte release of tumor necrosis factor alpha and

tissue factor by signal transduction pathways involving lipid rafts. *Arthritis Rheum*, 56, 2687-2697.

- Tincani, A., Andreoli, L., Casu, C., Cattaneo, R., et Meroni, P. (2010). Antiphospholipid antibody profile: implications for the evaluation and management of patients. *Lupus*, 19(4), 432-435.
- Vega, O, M., Casper, K, Swerlick, R, Ferrara, D, Harris, EN, et Pierangeli, SS. (2005). Involvement of p38 MAPK in the up-regulation of tissue factor on endothelial cells by antiphospholipid antibodies. *Arthritis Rheum*, 52, 1545-1554.
- Vlagea, A.D. , Gil, A., et Cuesta, M.V. (2013). Antiphosphatidylserine/Prothrombin Antibodies (aPS/PT) as Potential Markers of Antiphospholipid Syndrome. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, 19, 289-296.
- Visseaux , Benoit., Masliah-Planchon , Julien., Fischer , Anne-Marie., et Darnige , Luc. (2011). Diagnostic du syndrome des antiphospholipides : actualités. *Ann Biol Clin*, 69 (4), 411-418.
- Wahl, D., Saadi, L., Guillaume, P C., Membre , A., Frederic, M., Devignes, J. (2007). Syndrome des antiphospholipides. Classification actuelle et indications thérapeutiques. *Revue medecine therapeutique* 13 111-121.
- Wilson, W. A., Gharavi, A. E., Koike, T., Lockshin, M. D., Branch, D. W., Piette, J. C., . . . Khamashta, M. A. (1999). International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. *Arthritis Rheum*, 42(7), 1309-1311.